

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI  
"FEDERICO II"**

**Dottorato di Ricerca in  
"Riproduzione, Sviluppo ed Accrescimento  
dell'uomo"**

**Coordinatore: Prof. Claudio Pignata**

**Tesi di Dottorato**

***"Strategie di diagnosi e prevenzione del parto pretermine"***

**Tutore  
Prof.ssa Maria Vittoria Locci**

**Candidato  
Dott.ssa Antonietta Merenda**

**Anno Accademico 2006/2007**

## **Abstract**

### **Preterm delivery: diagnosis and prevention strategies.**

#### **Introduction**

Preterm birth is the leading cause of perinatal morbidity and mortality.

The rate of preterm birth has not decreased over the past 20 years although the widespread use of tocolytics. There has been much recent interest in ultrasonographic and biochemical markers designed to differentiate those women truly at risk for preterm delivery from those requiring no treatment. Transvaginal ultrasound evaluation of the cervix to identify patients at high risk for spontaneous preterm birth is a common practice.

#### **Objective**

The aim of this study was compared new organo-specific and old systemic tocolytic drugs in the strategies for the management of threatened preterm labor.

On the other hand, identified the patients at the risk of preterm labour, on the basis of the measure of cervical length by transvaginal ultrasound scan.

#### **Study design**

Our objective was to compare the effectiveness and safety of atosiban and ritodrine, in pregnancies obtained by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) undergoing cervical cerclage. Data from a prospective study were compared with those from a retrospective study.

Other endpoint was to evaluate the changes of cervical length in high risk patients undergoing atosiban treatment.

#### **Results**

There was no significant difference in terms of pregnancies not delivered at 48 h (short-term tocolysis)

and at 7 days (long-term tocolysis). However, there was a significantly higher incidence of maternal tachycardia with ritodrine compared with atosiban ( $p < 0.001$ ). The mean gestational age at delivery was significantly higher for atosiban compared with ritodrine (36 vs 33 weeks;  $p < 0.001$ ). The neonatal outcome was poorer for ritodrine than atosiban, as there were very low birth weight infants ( $p = 0.008$ ), resulting in lower Apgar scores ( $p = 0.005$ ) and there were more neonates requiring a long stay in the neonatal intensive care unit ( $p = 0.005$ ).

About the second endpoint, the measure of cervical length was significantly higher after atosiban treatment.

#### **Conclusion**

We conclude that atosiban is associated with a significantly lower incidence of maternal tachycardia and improved neonatal outcome compared with ritodrine.

The sonographic measurement of cervical length has been standardized and is reproducible. The association between cervical length and preterm delivery was been well documented. In this study we identified the high risk patients for preterm delivery that underwent to atosiban treatment by transvaginal measurement of cervical length..

**Key words:** preterm delivery, cervical length, tocolytic agents.

## **INDICE**

### **Parte 1**

<b>1.1 IL PARTO PRETERMINE.....</b>	<b>4</b>
definizione ed entità del problema.....	4
fattori di rischio.....	5
meccanismi fisiopatologici del travaglio di parto.....	6
ripening cervicale.....	7
diagnosi di parto pretermine.....	8
 <b>1.2 TEST DI SCREENING.....</b>	 <b>9</b>
ecografia transvaginale e cervicometria.....	9
fibronectina fetale.....	11
 <b>1.3 AGENTI TOCOLITICI.....</b>	 <b>12</b>
solfo di magnesio.....	12
inibitori delle prostaglandine.....	13
calcio antagonisti.....	13
betamimetici selettivi.....	14
antagonisti dell'ossitocina.....	14
progesterone.....	15

### **Parte 2**

<b>LINEE DI RICERCA.....</b>	<b>16</b>
------------------------------	-----------

- utilizzo dell'ecografia transvaginale come test di screening nella valutazione del rischio di parto pretermine
- confronto tra vecchi e nuovi farmaci tocolitici

### **Parte 3**

#### **RISULTATI.....17**

- M. Locci, **A. Merenda** et al. Journal of Obstet and Gynecol, July 2006; 26(5): 396-401.....**18**

*Atosiban versus ritodrine used prophylactically with cerclage in ICSI pregnancies to prevent preterm birth in women identified as being at high risk on the basis of transvaginal ultrasound scan*

-M. Locci, **A. Merenda** et al. **in sottomissione**.....**25**

*Ruolo del trattamento ripetuto con Atosiban nella prevenzione del parto pretermine nelle gravidanze gemellari con persistente riduzione della lunghezza cervicale.*

- M. Locci, **A. Merenda** et al Atti XV Congresso SIEOG 2006.....**31**

*Modifiche ecografiche della cervice uterina dopo trattamento con Atosiban*

- **Merenda**, M. Locci, et al Atti Congresso SIGO 2006.....**35**

*Isossisuprina cloridrato vs Atosiban in pazienti affette da pPROM. Nostra esperienza*

- M. Locci, **A. Merenda** et al. ....**40**

Atti del VI Training of Obstetric and Gynecology, 2007

*Tocolitici di ultima generazione (Atosiban) nelle gravidanze bigemine. Nostra esperienza*

**In stampa**

### **Parte 4**

#### **DISCUSSIONE.....47**

#### **BIBLIOGRAFIA.....50**

## 1.1 IL PARTO PRETERMINE

### Definizione ed entità del problema

Il parto pretermine o prematuro è quello che avviene prima della 37<sup>a</sup> settimana di gestazione o prima 259 giorni dal primo giorno dell'ultima mestruazione (1,2).

Il parto pretermine complica il 5-10% delle gravidanze (3), è considerato ormai la principale causa di morbidità e mortalità perinatale e neonatale nei paesi sviluppati contribuendo al 50-70 % di tutte le morti neonatali, se si escludono le malformazioni congenite (4). Si stima che ogni anno, nel mondo, nascano 13 milioni di bambini pretermine, ed anche se il 90% circa di tutte queste nascite si verifica nei paesi in via di sviluppo, i paesi sviluppati non sono esenti da questo problema. E' nota la correlazione inversa esistente tra le settimane al parto e la morbidità-mortalità neonatale. La sopravvivenza al parto è inferiore al 5% prima della 23<sup>a</sup> settimana raggiungendo il 95% dopo la 32<sup>a</sup> settimana. Parimenti, la morbidità decresce dal 60% per i nati prima della 23<sup>a</sup> settimana a meno del 5% dopo la 32<sup>a</sup> settimana. Nelle gravidanze gemellari, tale problematica riveste un ruolo ancor più importante: infatti, nelle gravidanze singole, la percentuale di parto prima della 32<sup>a</sup> settimana è dell'1-2% mentre è pari al 5-10% nelle gravidanze gemellari.

Inoltre, è di particolare rilievo considerare che l'incidenza delle gravidanze plurime è aumentata negli ultimi 25 anni. Tale fenomeno è da attribuirsi, verosimilmente, in parte all'aumentato utilizzo delle tecniche di fecondazione assistita ed in parte, al progressivo aumento della percentuale di gravide di età superiore ai 35 anni. E' evidente che, considerata l'ampiezza del fenomeno, strategie di prevenzione del parto pretermine diventino sempre più fondamentali. Tuttavia, malgrado il notevole interesse prestato dai ricercatori negli ultimi decenni, non si è ottenuta una riduzione sensibile dell'incidenza del parto pretermine, con un tasso di prematurità invariato negli ultimi 40 anni, probabilmente a causa dell'ampia disomogeneità nei comportamenti preventivi, nei protocolli terapeutici e nella individuazione e valutazione dei fattori di rischio.

In Europa l'incidenza complessiva sembra essere di circa il 6 % di cui circa il 95% sottoposto a cure ospedaliere specialistiche, è potenzialmente trattabile. Questo principio è applicabile però solo a pazienti che si trovano in uno stadio precoce del travaglio, escludendo quindi dal trattamento un 10% di pazienti che si trovano ad uno stadio avanzato dello stesso; vi è inoltre un ulteriore 50% di pazienti che non possono essere sottoposte a terapia con tocolitici o per presenza di rottura delle membrane dopo la 32<sup>a</sup> settimana di gestazione o per un'età gestazionale superiore alle 35 settimane. A tale epoca, infatti, i progressi della medicina neonatale rendono meno rischioso il parto pretermine rispetto al prosieguo della gestazione. Ritardare la nascita pretermine significa non solo diminuire i

riflessi psicologici e sociali correlati con il problema, ma anche ridurre i costi economici derivanti da cure neonatali intensive e protratte nel tempo (5).

Il “costo” di una nascita pretermine deve essere valutato in un contesto psico-sociale sia in un ambito prettamente economico; bisogna tener presente infatti le forti ripercussioni che un parto pretermine può avere sia sul bambino, con l’insorgenza di difficoltà di apprendimento o invalidità, sia sui genitori nei quali queste complicanze causano stress emotivi molto forti e disagi spesso a lungo termine.

### **Fattori di rischio**

Sebbene siano stati identificati numerosi fattori di rischio, quali l’etnia, l’età, il body mass index, il fumo di sigaretta, l’abuso di droghe, e la storia ostetrica, non è ancora stata raggiunta la piena comprensione degli eventi che inducono al parto pretermine spontaneo (6-9).

Distinguiamo fattori di rischio materni, fattori di rischio ostetrici e fattori di rischio riguardanti la gravidanza in corso, e indicatori secondari del rischio.

#### **INDICATORI PRIMARI**

##### **FATTORI DI RISCHIO MATERNI**

Razza ( nera)
Età materna < 18 anni e > 40 anni
Basso livello socioeconomico
Primiparità
Basso peso materno pregravidico ( <50 Kg)
Attività lavorativa pesante o stressante
Stress psicologico
Fumo
Uso di droghe e alcool
Scarsa assistenza prenatale
Anemia ( Hb < 10 g/ dl)
Malattie materne acute o croniche ( cardiopatie, ipertensione arteriosa, ipertiroidismo, nefropatie, diabete mellito)

### **FATTORI DI RISCHIO OSTETRICI**

Precedente aborto spontaneo nel II trimestre Precedente parto pretermine Precedenti sanguinamenti Anomalie uterine ( conizzazioni, fibromi, malformazioni mulleriane, incompetenza cervicale)
--

### **FATTORI DI RISCHIO RIGUARDANTI LA GRAVIDANZA IN CORSO**

Gravidanze gemellari Oligoamnios Poliamnios Malformazioni fetali PROM Gestosi IUGR Perdite ematiche Incompetenza cervicale Infezioni del tratto genitale
---

### **INDICATORI SECONDARI DI RISCHIO**

Cervicometria misurata con ecografia transvaginale Ricerca fibronectina nelle secrezioni vaginali
--

### **Meccanismi fisiopatologici del travaglio di parto**

Le cause che determinano l'inizio di un travaglio pretermine sono ancora oggetto di discussione, tuttavia l'insorgenza ed il mantenimento delle contrazioni sembra ormai certo dipendere dall'armonica espansione del segmento uterino inferiore e dalla dilatazione del canale cervicale. Indipendentemente comunque dalla causa scatenante, quando il travaglio di parto è stato messo in moto questo procede in maniera autonoma e difficilmente arrestabile, per l'entrata in funzione di una serie concatenata di meccanismi di autoregolazione.

Le funzioni del miometrio e della cervice sono collegate e coordinate durante la gravidanza ed il travaglio di parto. Le cellule miometriali sono collegate tra loro attraverso gap junctions che ne

sincronizzano l'azione e permettono la conduzione dello stimolo elettrofisiologico durante il travaglio. Inoltre in questa fase si può osservare l'aumento numerico di queste ultime (10).

I *fattori ormonali* di cui fanno parte l'ossitocina, gli estrogeni, il progesterone e le prostaglandine (PG), giocano un ruolo di fondamentale importanza attraverso una serie di meccanismi sinergici, di tipo endocrino e paracrino, nell'induzione del travaglio pretermine.

Le PG sono prodotte dalla decidua e dalle membrane amniocoriali, hanno un ruolo determinante nello scatenare il travaglio di parto, essendo potenti attivatori della contrattilità uterina, inducono inoltre la maturazione cervicale e la formazione di gap junctions. La loro produzione aumenta durante tutta la gravidanza, è possibile determinare la loro concentrazione nel liquido amniotico, nel sangue e nelle urine materni. Di particolare interesse sono la  $\text{PGF2}\alpha$ , che stimola le contrazioni uterine, e la  $\text{PGE2}$  che agisce favorendo la maturazione del collo dell'utero e della dilatazione cervicale. Le PG inducono contrazioni uterine in tutte le fasi della gravidanza se somministrate esternamente. Parallelamente all'azione prostaglandinica nel corso del travaglio di parto si è riscontrato un aumento dei livelli plasmatici materni di ossitocina e dei suoi recettori ed un progressivo e considerevole aumento della sensibilità materna all'ossitocina stessa. Tali mutamenti hanno un ruolo importante nel provocare il travaglio e nel mantenere l'attività contrattile uterina nella fase iniziale del periodo dilatante. L'ossitocina infatti, in seguito al legame con i propri recettori e all'attivazione di un secondo messaggero, provoca nelle cellule miometriali un aumento delle concentrazioni di calcio intracellulare e quindi un aumento dell'attività contrattile uterina. Molto importante è inoltre a livello della decidua, la stimolazione da parte dell'ossitocina della  $\text{PGF2}\alpha$  dalla cui azione dipende l'ulteriore prosecuzione del travaglio (11,12).

Gli estrogeni, che agiscono attraverso i recettori alfa adrenergici causando una riduzione dei livelli intracellulari di cAMP, sono determinanti per la produzione delle proteine contrattili e strutturali della fibrocellula muscolare uterina e rappresentano un fattore essenziale nel determinare l'aumento dei recettori muscolari per l'ossitocina.

Il progesterone agisce attraverso i recettori beta adrenergici causando un aumento dei livelli di cAMP, determinando una desincronizzazione dell'attività contrattile e la comparsa di contrazioni localizzate spontanee.

L'cAMP è un secondo messaggero intracellulare che influenza molti eventi fisiologici. Per quanto riguarda la sua funzione nella decontrazione uterina, un ruolo importante gioca nell'inibizione della mobilitazione del calcio intracellulare e dell'apparato contrattile, attraverso l'attivazione della proteina chinasi A, cAMP dipendente, comunque tutt'ora il meccanismo non è pienamente conosciuto (13). Oltre ai fattori ormonali tra le cause che possono innescare un travaglio di parto distinguiamo *fattori nervosi*, basati sulla stimolazione della motilità delle fibre del miometrio e sulla



stimolazione che origina dal collo uterino; fattori meccanici come la sovradistensione uterina (gravidanze gemellari, polidramnios) o la brusca riduzione del volume uterino (rottura delle membrane), fattori ambientali (interventi chirurgici, traumi etc.). L'attivazione dell'asse ipotalamo ipofisi fetale nelle ultime settimane di gestazione sembra avere un ulteriore ruolo nell'innescare il travaglio di parto. In caso di sofferenza fetale (ipossia, infezioni), la liberazione di glucocorticoidi e ACTH favorirebbero l'innescare delle contrazioni. Comunque alcune osservazioni in gravidanze con feti affetti da anencefalia hanno sottolineato come non esistono sostanziali differenze di durata della gravidanza. Questo suggerisce che la normale funzione ipofisaria è richiesta per una fine regolazione del timing del parto, ma anche che il parto spontaneo avviene regolarmente anche in gravide con feti affetti da anencefalia (14).

### **Ripening cervicale**

Il processo di ripening cervicale è legato ad un profondo rimodellamento della matrice extracellulare (MEC) cervicale. Il meccanismo che dà inizio a tale processo sia nel travaglio a termine che in quello pretermine al momento è sconosciuto. La cervice umana è composta di tessuto connettivo che consiste principalmente di collagene, elastina e glicosamminoglicani. I cambiamenti cervicali sono legati ad un aumento della vascolarizzazione cervicale, della concentrazione di acqua, una disorganizzazione del collagene con una riduzione del contenuto di collagene e di elastina e un aumento della concentrazione di acido ialuronico ed eparan solfato. Tutte queste modifiche determinano la riduzione di consistenza della cervice che ne permette il raccorciamento e la dilatazione durante il travaglio di parto. Durante il ripening cervicale si osserva un significativo aumento locale di cellule ematiche della serie bianca, pertanto questo processo è legato ad una risposta infiammatoria.

La ristrutturazione della MEC è attribuita al rilascio di proteasi dalle cellule infiammatorie quali macrofagi e leucociti (15). Pertanto si osserva una elevata concentrazione di citokine pro-infiammatorie in particolare IL-1, IL-6, IL-8 e delle metallo-proteasi MMP 8 e MMP 9 (16).

In particolare sembra che la IL-8 sia la più coinvolta nel processo di ripening cervicale. In uno studio eseguito nel 2004, Chwalisz K ha dimostrato come l'applicazione locale di IL-8 dà inizio al processo di ripening cervicale nei roditori (17).

### **Diagnosi di parto pretermine**

L'identificazione precoce del vero travaglio di parto, cioè prima che avvenga un appiattimento con dilatazione cervicale è spesso difficile. Le contrazioni di Braxton Hicks o le semplici contratture uterine legate ai movimenti fetali sono descritte come irregolari, non ritmiche e variamente

dolorose, spesso non differenziate da quelle che determinano il parto pretermine, e conducono la donna al ricovero ospedaliero con la diagnosi di minaccia di parto pretermine

Pertanto l'American College of Obstetricians and Gynecologists nel 1997 ha proposto i criteri per documentare e porre diagnosi di parto pretermine.

Il parto pretermine si identifica con la presenza di contrazioni uterine registrate tra 22 e 37 settimane di gestazione con un ritmo di 4 in 20 min o 8 in un'ora con progressive modificazioni del collo uterino, e/o una dilatazione cervicale  $\geq 2$  cm e/o rottura prematura delle membrane. Nonostante la presenza di criteri così ben definiti, la necessità di un trattamento precoce induce i medici ad emettere diagnosi senza aver soddisfatto i criteri menzionati, e quindi l'incidenza riportata di minaccia di travaglio pretermine è superiore a quella di travaglio prematuro vero e proprio.

## **1.2 TEST DI SCREENING PER IL RISCHIO DI PARTO PRETERMINE**

Nelle pazienti asintomatiche che presentino positività per i fattori di rischio sopra indicati è possibile eseguire alcuni test di screening alla 24<sup>a</sup> settimana di gestazione, in particolare la misurazione ecografica transvaginale della lunghezza cervicale e la ricerca della fibronectina fetale (FFN) nelle secrezioni vaginali. Mentre quest'ultimo test risulta alquanto costoso, l'ecografia transvaginale è in uso in tutte le strutture ospedaliere e la *learning curve* per il calcolo della cervice è di breve durata e di facile applicazione. Nelle pazienti sintomatiche le linee guida dell' International Preterm Labour Council del 2003, stabiliscono che l'ecografia transvaginale per la misurazione della lunghezza cervicale e il test alla FFN non sono test da utilizzare routinariamente, ma hanno indicazione quando non è possibile con i soli parametri clinici porre diagnosi certa di travaglio di parto pretermine prima della 34<sup>a</sup> settimana di gestazione.

### **Ecografia transvaginale e cervicometria**

La visita ostetrica è scarsamente predittiva di parto pretermine con un valore di falsi positivi del 40%. La mancanza di efficacia dell'esame cervicale legato soprattutto alle variazioni soggettive inter-intra osservatore, suggerisce che non può essere considerato un test per identificare le donne a rischio di parto pretermine.

In tal senso, un ruolo cruciale sembra essere svolto dalla misurazione ecografia transvaginale della lunghezza cervicale durante il secondo trimestre di gravidanza (18,19).

L'esame viene eseguito con sonda transvaginale a vescica vuota. La durata dell'esame non deve essere inferiore a 3 minuti; della cervice viene valutata la lunghezza e la presenza o l'assenza del

funneling. La lunghezza viene misurata dall' OUI (orifizio uterino interno) all'OUE (orifizio uterino esterno), ecograficamente corrisponde alla linea iperecogena determinata dalla presenza di muco e dalla giustapposizione delle pareti anteriore e posteriore del canale cervicale, il diametro longitudinale della cervice deve essere valutato con paziente a riposo, e imprimendo una modesta pressione fundica lungo l'asse longitudinale dell'utero. Il Funneling è rappresentato dalla dilatazione dell'orifizio uterino interno con protrusione delle membrane. Devono essere considerati come risposta patologica il raccorciamento della cervice stessa e la comparsa o l'ampliamento del Funneling.

È un test riproducibile e di facile esecuzione.

Vari studi hanno accertato la relazione lineare esistente tra lunghezza cervicale e rischio di parto pretermine. La valutazione mediante ecografia transvaginale della lunghezza della cervice uterina è, infatti, in grado di identificare con buona sensibilità le pazienti a rischio di parto pretermine. L'epoca gestazionale per la valutazione del dato e il cut-off della lunghezza cervicale per la gravidanza singola e gemellare è diverso a seconda dei vari studi. Numerosi studi sono stati condotti nel corso degli anni per definire il ruolo della lunghezza della cervice nella predizione del parto pretermine. Nel 1990, Andersen ha valutato 113 gravidanze a medio e a basso rischio prima della 30<sup>a</sup> settimana, per valutare se il raccorciamento della cervice uterina identificasse le gravide a maggior rischio di parto pre-termine. Durante il suo studio ha evidenziato che una misura inferiore al 10° percentile (minore di 39 mm) è associata a un rischio aumentato di parto pre-termine (20).

Nel 1993, Murakawa ha valutato 32 gravide con minaccia di parto pre-termine tra la 25<sup>a</sup> e la 35<sup>a</sup> settimana, facendo riferimento ad uno schema costruito con i dati di 177 gravide normali. Le pazienti sintomatiche, con una lunghezza cervicale inferiore ai 20 mm hanno partorito tutte pre-termine, quelle con una cervice maggiore di 35 mm hanno partorito tutte a termine (21). 1994 Jams ha studiato 60 gravide con minaccia di parto pre-termine; le 24 pazienti che hanno partorito prima della 36<sup>a</sup> settimana avevano un collo inferiore a 30 mm. Iams ha stabilito che la percentuale di parto pretermine era di 6,5 volte aumentata nelle gravide con lunghezza della cervice minore di 25 mm e con età gestazionale < 35 settimane, e di 7,7 volte in quelle con stessa lunghezza cervicale ma con età gestazionale < 32 settimane (22).

Per quanto riguarda la valutazione della cervice con ecografia transvaginale nelle gravidanze gemellari esiste uno studio (Kushnir, 1990) che fornisce un nomogramma di riferimento fra la 14<sup>a</sup> e la 37<sup>a</sup> settimana (23).

La differenza della lunghezza della cervice uterina riscontrata nelle gravidanze gemellari e singole, è risultata essere in media di 9 mm nel periodo di gestazione compreso tra la 20<sup>a</sup> e la 37<sup>a</sup>

Ancora, Iams e coll. hanno proposto come una lunghezza cervicale  $\leq 26$  mm misurata a 24 settimane di gestazione incrementi il rischio di parto pretermine (24). Altri autori hanno proposto un cut-off  $\leq 15$  mm con un rischio del 50% di parto prima di 32 settimane di gestazione. In una review del 2003 Honest e coll. hanno riportato un cut-off  $\leq 25$  mm misurato tra 20-24 settimane di gestazione (25). A 24 settimane di gestazione la lunghezza cervicale può variare da 25 mm (5° percentile) a 44 mm (75° percentile). A queste settimane una lunghezza cervicale  $\leq 15$  mm è predittiva di parto prima della 28<sup>a</sup> settimana di gestazione, nel 90% dei casi. Gli autori hanno evidenziato un andamento simile fra le gravidanze singole e gemellari dalla 14<sup>a</sup> alla 19<sup>a</sup> settimana. Dopo questo periodo, la cervice misurata nelle gravidanze gemellari è sempre significativamente più corta che nelle gravidanze singole e non c'è differenza tra nullipare e pluripare (26, 27).

Nelle gravidanze bigemine una lunghezza cervicale  $\leq 25$  mm identifica un rischio di parto pretermine del 50% (28).

Nelle gravidanze singole tale cut-off è dato da una lunghezza cervicale  $\leq 15$  mm. Alfrevic e coll nel 2007 hanno sottolineato la necessità di eseguire una corretta diagnosi di minaccia di parto pretermine per ridurre l'incidenza di ricoveri ospedalieri inutili ed evitare di sottoporre le pazienti a trattamento tocolitico e corticosteroidico non necessari. Utilizzando come cut off di lunghezza cervicale 15 mm, le gravide con lunghezze cervicali superiori o uguali a tale valore, misurato a distanza di 4 ore dal primo rilievo, non sono state sottoposte ad alcun trattamento e a distanza di 7 giorni il parto non era avvenuto (29).

### **Fibronectina fetale**

La fibronectina fetale (FFN) è una glicoproteina della matrice extracellulare prodotta dal corion, presente nell'interfaccia corion-deciduale. Essa rappresenta un marker sensibile dello scollamento di un danno della giunzione corion-deciduale. È normalmente presente nelle secrezioni vaginali prima della 20<sup>a</sup> settimana di gestazione, per poi sparire e riapparire all'inizio del travaglio di parto. Il ritrovamento di FFN nelle secrezioni vaginali, dopo la 22<sup>a</sup> settimana rappresenta un marker di scollamento delle membrane amniotiche dalla parete uterina e pertanto può essere utilizzato come indicatore di parto pretermine. Il prelievo del campione per la determinazione di FFN viene effettuato mediante tampone vaginale, risulta positivo per valori  $> 50$  ng/ml. Tale test può essere alterato in caso di infezioni vaginali o di contaminazione con sangue o lubrificanti spesso utilizzati per la visita ostetrica (30-32).

L'elevato valore predittivo negativo (VNP) rende questo test utile, nella pratica clinica, per identificare le pazienti che pur essendo sintomatiche, hanno un basso rischio di avere un parto

pretermine. Una recente metanalisi ha evidenziato una sensibilità del test del 77% ed una specificità dell'87% nel predire il parto pretermine entro 7 giorni (33).

### **1.3 Agenti tocolitici**

L'approccio terapeutico alla prevenzione e alla cura del parto pretermine è basato sull'impiego di diversi agenti tocolitici. Lo scopo primario della terapia tocolitica è di posticipare il parto almeno di 48 ore, periodo necessario alla somministrazione di glucocorticoidi per ridurre l'incidenza di sindrome da distress respiratorio fetale e di emorragia intraventricolare (34,35).

Lo scopo secondario è di ridurre la mortalità e la morbidità perinatale legate alla severa prematurità (36).

In epoca gestazionale precoce tra 22 e 28 settimane di gestazione posticipare il parto di un giorno determina un aumento della sopravvivenza neonatale del 3%. Molti sono gli agenti tocolitici presenti in commercio, le prostaglandine, il solfato di magnesio, i calcio antagonisti, i betamimetici, gli antagonisti recettoriali dell'ossitocina (Atosiban) e il progesterone (37,38).

Le prime tre categorie di farmaci presentano severi effetti collaterali materni (tachicardia, nausea, vomito, tremori, rialzo pressorio, tossicità cardiaca fino all'edema polmonare), fetali (tachicardia, bradicardia, morte improvvisa fetale) e neonatali. Recenti evidenze scientifiche hanno mostrato che l'Atosiban garantisce un'efficacia comparabile ai beta mimetici, ma con una maggiore tollerabilità grazie alla sua peculiare e specifica azione di antagonismo sui recettori dell'ossitocina, anche nelle gravidanze bigemine. Tale dato rivestirebbe quindi un ruolo fondamentale proprio in queste ultime, in cui l'uso dei beta agonisti è controindicato. Infatti, incrementare i livelli di renina ed aldosterone in una gravidanza già associata ad un maggiore volume plasmatico materno e ad iperaldosteronismo secondario, può aumentare ulteriormente il rischio di edema polmonare.

#### **Solfato di magnesio**

L'effetto tocolitico del solfato di magnesio è legato a diversi meccanismi d'azione. Presenta un'azione di inibizione nervosa centrale interferendo con la liberazione dell'acetilcolina. Svolge un ruolo di antagonismo competitivo per il calcio determinando una riduzione dei livelli intracellulari, agendo sull'interazione actina-miosina e quindi sulla contrattilità del muscolo liscio.

L'azione del solfato di magnesio è dose dipendente. Sono necessarie concentrazioni sieriche di magnesio pari a 5-8 mg/dl per ottenere un effetto tocolitico. Dosi superiori possono determinare alterazione dei riflessi tendinei profondi (9-13 mg/dl) fino alla depressione respiratoria (> 14 mg/dl).

Questo farmaco così come i beta mimetici può causare edema polmonare , è necessario durante il trattamento ridurre l'introito di liquidi totale a 1500-2000 cc al giorno (39,40).

### **Gli inibitori delle prostaglandine**

Questa categoria di farmaci agisce direttamente bloccando l'azione delle prostaglandine, indirettamente impedendo la conversione dell'acido arachidonico in prostaglandine. In particolare l'indometacina viene somministrata per os al dosaggio di 25 mg ogni 6 ore oppure per via rettale al dosaggio di 100 – 200 mg al giorno.

Questo farmaco è poco utilizzato per gli effetti avversi fetali. La somministrazione è consigliata dopo la 32<sup>a</sup> settimana di gestazione; la durata del trattamento non deve superare le 48-72 ore, per evitare la chiusura precoce del dotto arterioso fetale di Botallo (41).

### **Calcio-antagonisti**

Essi giocano un ruolo importante sulla concentrazione di calcio libero intracitoplasmatico.

Il più noto calcio antagonista è la nifedipina. Questo farmaco determina una azione tocolitica determinando il blocco dei canali del calcio, determinando una riduzione della concentrazione del calcio intracellulare; l'effetto è reversibile alla sospensione del trattamento. La somministrazione avviene per via orale , il dosaggio del farmaco varia da un minimo di 30 mg pro die ad un massimo di 160 mg pro die. La nifedipina agisce prevalentemente sui vasi sanguigni determinando vasodilatazione periferica. A livello cardiaco presenta un effetto inotropo e cronotropo negativo causano depressione cardiaca. In condizioni normali la vasodilatazione determina una stimolazione dei barocettori del seno carotideo con un aumento del tono simpatico e quindi una conseguente compensazione cardiaca. In condizioni associate a particolare vasodilatazione, quali le gravidanze gemellari e le infezioni, viene a mancare il riflesso barocettoriale e quindi l'aumento del tono simpatico con conseguente depressione cardiaca.

Gli effetti collaterali dei calcio-antagonisti sono numerosi (cefalea, ipotensione e cefalea, fibrillazione atriale materni, bradicardia fetale) ma i più temuti sono rappresentati dall' edema polmonare e dall' infarto miocardio materno, e dalla morte improvvisa fetale (42,43).

### **Beta-agonisti selettivi (ritodrina cloridrato)**

Sono sicuramente i tocolitici più utilizzati.

Esercitano la loro azione tocolitica agendo sui recettori  $\beta_2$ -adrenergici dell'utero e quindi rilasciando la muscolatura liscia del miometrio mediante l'attivazione di un enzima, l'adenilciclasi, che provoca

un incremento dell'AMPc intracellulare che come secondo messaggero avvia una serie di reazione cellulari che portano, in ultima analisi, ad una riduzione dei livelli intracellulari di calcio (44,45).

La specificità nei confronti dei recettori uterini non è mai completa e ciò causa spesso una ridotta tollerabilità del farmaco per l'insorgenza di una serie di eventi avversi materni e fetali.

La maggior parte delle controversie e degli studi che sono stati effettuati, in questi anni, si sono basati sulla scarsa tollerabilità, come tocolitici, dei beta-agonisti ed in particolare della ritodrina, che è il farmaco più utilizzato a tale scopo. A causa della sua azione su numerosi organi la ritodrina provoca effetti collaterali severi e complicanze sia alla madre che al feto; gli effetti avversi materni più frequenti sono a carico dell'apparato cardiovascolare: ipertensione arteriosa, tachicardia, aritmia, dolore toracico, nei casi più severi, ischemia cardiaca, edema polmonare. I beta-agonisti oltrepassano rapidamente la barriera placentare e possono dare accumulo nella circolazione fetale, causando spesso tachicardia e altre aritmie fetali. La ritodrina causa inoltre, alterazioni metaboliche fetali tra cui ipoglicemia, secondaria all'iperinsulinemia, ed incremento dei livelli di ormone della crescita, per stimolazione del pancreas.

### **Antagonisti dell'ossitocina**

La seconda classe di farmaci che in questa sede andiamo a valutare è quella degli antagonisti dell'ossitocina. Il meccanismo d'azione dell'ossitocina, come abbiamo precedentemente accennato, si basa sulla stimolazione della contrattilità uterina, legandosi ai recettori di membrana e incrementando il calcio intracellulare, e promuovendo la liberazione di prostaglandine a livello della decidua e delle membrane fetali.

Tale meccanismo attiva una cascata di eventi che stimolano ulteriormente la contrattilità uterina ed avviano il processo di maturazione della cervice. L'atosiban, ottenuto da una modificazione della molecola dell'ossitocina, agisce in maniera competitiva sui recettori del miometrio e, potenzialmente a livello della decidua e delle membrane fetali, tale sostanza legandosi al sito recettoriale dell'ossitocina ne blocca la trasmissione, agendo sul secondo messaggero ed impedendo l'ingresso del calcio; il risultato è una inibizione dose dipendente della contrattilità uterina. Tale farmaco inoltre in maniera indiretta, riduce la liberazione di prostaglandine mediata dall'ossitocina. Per quanto riguarda inoltre la potente affinità che l'atosiban possiede per i recettori V1 della vasopressina (ormone antidiuretico ADH), e quindi il potenziale rischio di effetti collaterali indesiderati (46).

Innumerevoli studi sono stati condotti sulla tollerabilità dell'atosiban e sul parallelismo tra gli effetti collaterali di detto farmaco e quelli dei beta-agonisti, come risultato si è riscontrato che gli effetti avversi in corso di terapia, con entrambe queste categorie di farmaci sono in alcuni casi molto simili

e che la principale differenza sulla quale è importante soffermarsi è il tasso di incidenza di tali effetti, che sottolinea la diffusa tollerabilità dell'atosiban rispetto alla ritodrina (47,48,49).

Gli eventi avversi di natura cardiovascolare che per anni hanno limitato l'uso dei beta-agonisti, in particolare l'edema polmonare e l'infarto, non sono riportati tra gli eventi avversi con l'utilizzo di atosiban.

Valenzuela e coll. in uno studio randomizzato, atto a valutare la capacità dell'atosiban di oltrepassare la barriera placentare, hanno inoltre determinato il grado di tale passaggio, in rapporto allo sviluppo di eventuali effetti indesiderati fetali e neonatali. Tale studio è stato condotto in donne sane gravide utilizzando una dose di 300 µg/min per 3.5-8 ore, riportando concentrazioni plasmatiche fetali di circa il 12% di quelle materne, costanti per tutto il periodo di infusione. Questi risultati hanno confermato le innumerevoli evidenze cliniche sulla bassa incidenza di effetti collaterali feto/neonatali nelle pazienti in trattamento con atosiban rispetto a quelle in trattamento con ritodrina (50). Il Barusiban è un nuovo antagonista recettoriale dell'ossitocina; presenta una attività selettiva per il recettore dell'OT di tipo antagonista senza interferire con il recettore V1 della vasopressina. Ha infatti un'affinità 300 volte maggiore per il recettore dell'ossitocina rispetto a quello della vasopressina.

Inoltre presenta una durata d'azione superiore all'atosiban. Attualmente è stato sperimentato in modelli animali (scimmie), ha dimostrato efficacia nel sopprimere le contrazioni indotte dalla somministrazione di basse dosi di ossitocina. Tale effetto inibitorio risulta reversibile con la somministrazione di ossitocina ad alte dosi (51).

## **Progesterone**

La produzione di progesterone da parte del corpo luteo è fondamentale nei primi tre mesi di gravidanza per il mantenimento della gravidanza stessa. Il progesterone è un ormone naturale che si lega al suo specifico recettore con effetto "*pro gravidanza*", inoltre è capace di interferire con l'attività di altri ormoni steroidei legandosi a diversi recettori. Pertanto il progesterone possiede attività anti-estrogenica, attività anti-androgenica e anti-mineralcorticoide. Per molto tempo il progesterone non è stato utilizzato nella pratica clinica per la sua rapida inattivazione epatica dopo la somministrazione. La produzione di una forma micronizzata permette la somministrazione, con il mantenimento di adeguati livelli plasmatici e tissutali di tale ormone. Gli effetti del progesterone si hanno per dosi di 200 mg al giorno (52).

Il progesterone presenta un effetto tocolitico agendo attraverso i recettori beta adrenergici causando un aumento dei livelli di cAMP, determinando una desincronizzazione dell'attività contrattile e la



comparsa di contrazioni localizzate spontanee. Numerosi studi presenti in letteratura ne dimostrano l'efficacia con scarsi effetti collaterali.

Una review di sei studi randomizzati (Cochrane database 2006) sulla somministrazione del progesterone per la prevenzione del parto pretermine ha evidenziato come la somministrazione intramuscolare di 17 idrossiprogesterone caproato si associa ad una riduzione del rischio di parto pretermine prima della 37<sup>a</sup> settimana di gestazione. La dose somministrata è di una fiala da 250 mg a settimana da 28 a 37 settimane di gestazione (53). In un'analisi retrospettiva dal 2004 al 2006, Rebarber et al hanno evidenziato che la sospensione precoce del 17 OH progesterone caproato, prima della 32<sup>a</sup> settimana di gestazione, era associata a parto pretermine. Nel 48% dei casi il parto avveniva dopo 10 giorni dalla somministrazione dell'ultima fiala (54). Ancora, Rebarber in uno studio del 2007 ha sottolineato l'effetto diabetogeno del 17 OH progesterone caproato se somministrato nella prevenzione del parto pretermine, pertanto è necessario eseguire un test di screening precoce per il diabete mellito in caso di somministrazioni prolungate di questo farmaco (55). Il 17 OH progesterone caproato non è presente in commercio in Italia.

Il progesterone micronizzato, è un preparato in capsule orale e vaginale presente in Italia in due dosaggi differenti, 100 e 200 mg.

Audra P et al nel 1991, in uno studio in doppio-cieco placebo controllo, ha sottoposto un gruppo di pazienti affette da parto pretermine, già in trattamento con betamimetici per via endovenosa, a trattamento con progesterone micronizzato per os, evidenziando che tale associazione permetteva la riduzione del dosaggio di betamimetici e della durata complessiva del trattamento (56). La somministrazione profilattica vaginale di progesterone (100 mg) nella popolazione a rischio di parto pretermine, tra 24 e 34 settimane di gestazione, riduce la frequenza delle contrazioni e il tasso di parto pretermine (Fonseca 2003) (57). Fonseca nel 2007 ha sottoposto un gruppo di pazienti con anamnesi positiva per parto pretermine, e lunghezza cervicale  $\leq 15$  mm, a trattamento con progesterone micronizzato 200 mg a sera per via vaginale. Le pazienti con cervice corta trattate con progesterone presentavano un tasso di parto pretermine, prima della 34<sup>a</sup> settimana di gestazione, ridotto (58).

## **2. LINEE DI RICERCA**

- utilizzo dell'ecografia transvaginale come test di screening nella valutazione del rischio di parto pretermine
- confronto tra vecchi e nuovi farmaci tocolitici

### **3. RISULTATI**

#### **3.1 ATOSIBAN VS RITODRINE USED PROPHYLACTILLY WITH CERCLAGE IN ICSI PREGNANCIES TO PREVENT PRE- TERM BIRTH IN WOMEN IDENTIFIED AS BEING AT HIGH RISK ON THE BASIS OF TRANSVAGINAL ULTRASOUND SCAN.**

Le gravidanze ottenute da iniezione intracitoplasmatica di spermatozoi (ICSI) sono considerate a maggior rischio di complicanze quali il parto pretermine e la pre-eclampsia. Il rischio di parto pretermine non è solo legato alla maggiore incidenza in tale popolazione di gravidanza multipla ma sembra insito nella tecnica stessa. Peter G McGovern et al (Fertil Steril 2004) riportano un aumentato rischio di parto pretermine e di ritardata crescita intrauterina nelle gravidanze singole ottenute da ICSI rispetto alla popolazione generale. Pertanto, non è la plurigeminità causa di tali complicanze ma piuttosto le ragioni stesse della sterilità di coppia che portano all'esecuzione della tecnica ICSI per ottenere una gravidanza, il primum movens fisiopatogenetico di tali complicanze. Inoltre in letteratura è riportato un aumentata prevalenza di IUGR nelle gravidanze ottenute da assisted reproductive technology ART rispetto alla popolazione generale (15.8% vs 5.3%) (T. Perri et al J Assist Reprod Gen 2001).

S. McDonald et al nel 2005 partendo dal presupposto che studi non controllati suggerivano un aumento dell'incidenza di parto pretermine nelle gravidanze gemellari hanno eseguito una metanalisi in cui si osservava un aumento del parto pretermine (prima delle 37 settimane di gestazione) nelle gravidanze gemellari ottenute da ICSI rispetto ai controlli.

Il nostro gruppo ha confrontato l'efficacia e la sicurezza di farmaci tocolitici di vecchia e nuova generazione (Ritodrina vs Atosiban) nella prevenzione del parto pretermine nelle gravidanze singole ottenute da ICSI. In particolare ha focalizzato l'attenzione sull'utilizzo dell'atosiban, antagonista recettoriale dell'ossitocina, combinato all'applicazione chirurgica del cerchiaggio cervicale in gravidanze ICSI in tra 20 e 24 settimane di gestazione.

# Atosiban vs ritodrine used prophylactically with cerclage in ICSI pregnancies to prevent pre-term birth in women identified as being at high risk on the basis of transvaginal ultrasound scan

M. LOCCI, G. NAZZARO, A. MERENDA, M. L. PISATURO, P. LAVISCIO, R. POPPITI, M. MIRANDA, A. STILE, & G. DE PLACIDO

*University of Naples Federico II, Naples, Italy*

## Summary

Our objective was to compare the effectiveness and safety of atosiban and ritodrine, in pregnancies obtained by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) undergoing cervical cerclage. Data from a prospective study were compared with those from a retrospective study. Sixteen ICSI pregnant women, 20–24 weeks' gestation and maternal age > 18 years, received atosiban (bolus dose 6.75 mg i.v., followed by 300 µg/min i.v. for 3 h and 100 µg/min i.v. for 45 h). Cervical cerclage was performed 3 h after starting atosiban. The control group (group B) of 16 ICSI pregnant women were matched and received ritodrine hydrochloride (100–350 µg/min) for 48 h. Cervical cerclage was performed after 24 h. Pre-term rupture of membranes occurred within 48 h of cervical cerclage in one woman receiving atosiban and in four women receiving ritodrine. There was no significant difference in terms of pregnancies not delivered at 48 h (short-term tocolysis) and at 7 days (long-term tocolysis). However, there was a significantly higher incidence of maternal tachycardia with ritodrine compared with atosiban ( $p < 0.001$ ). The mean gestational age at delivery was significantly higher for atosiban compared with ritodrine (36 vs 33 weeks;  $p < 0.001$ ). The neonatal outcome was poorer for ritodrine than atosiban, as there were very low birth weight infants ( $p = 0.008$ ), resulting in lower Apgar scores ( $p = 0.005$ ) and there were more neonates requiring a long stay in the neonatal intensive care unit ( $p = 0.005$ ). We conclude that atosiban is associated with a significantly lower incidence of maternal tachycardia and improved neonatal outcome compared with ritodrine.

## Introduction

Pre-term delivery occurs in 8–10% of all births and accounts for approximately 80% of early neonatal morbidity and death (Hall et al. 1997; Lopez-Bernal and Tamby Raja 2000). Extremely pre-term infants are at risk of cerebral palsy and at a later stage behavioural, fine motor and learning difficulties. As a consequence, reducing pre-term birth is a primary goal in perinatal healthcare. Advances in medical treatment have allowed the prolongation of pregnancy in women at risk of early delivery. However, during the last two decades, the number of pregnancies at high risk for pre-term delivery has escalated as a result of the increase in multifetal pregnancies due to *in-vitro* fertilisation programmes.

Multiple pregnancies have premature uterine sensitivity to oxytocin due to uterine overdistention. In addition, pre-term and low birth weight deliveries are more common in singleton pregnancies conceived after ovulation induction and assisted reproductive technology (ART) than in singleton pregnancies conceived spontaneously (Perri et al. 2001). For example, pre-term low birth weight and very low birth weight was increased 1.4–3.5-fold in women who conceived after fertility treatment. These observations

suggest that singleton or multiple pregnancies arising from ART are at high risk of pre-term delivery.

On the basis of these considerations, at-risk pregnancies, such as those resulting from intra-cytoplasmic sperm injection (ICSI), should be treated to improve pregnancy outcome. Options for prophylaxis include supplemental tocolytic agents, assessment of cervical incompetence and/or short cervix by transvaginal ultrasound and screening for genital tract infections. Of the tocolytic agents currently available, atosiban, an oxytocin antagonist, has been shown to be the most effective and safe (Worldwide Atosiban vs Beta-agonists Study Group 2001; Romero et al. 2000; Valenzuela et al. 2000). Parturition is the consequence of a complex interplay of fetal and maternal factors (Okazaki et al. 1981; Bleasdale et al. 1983; Olson et al. 1983; Warrick et al. 1985; Di Renzo et al. 1984). Cervical incompetence represents one of these factors. The risk of spontaneous pre-term birth proportionally increases with shortening of the cervical length between gestational weeks 16 and 32 (Bibbi et al. 1979; Hassan et al. 2000; Macdonald et al. 2001; Guzman et al. 2001). The cervix is found to be dilated and effacing with bulging membranes in the absence of uterine contraction or bleeding. The true incidence of this condition is unknown. The onset of spontaneous pre-term labour

Correspondence: M. Locci, Via Domenico Fontana 27, I-80128 Naples, Italy. E-mail: nazzaro18@tin.it

ISSN 0144-3615 print/ISSN 1364-6893 online © 2006 Informa UK Ltd.  
DOI: 10.1080/01443610600719883

includes three most temporally related uterine events: cervical ripening, formation of gap junctions and an increase in oxytocin receptors. Cervical ripening precedes the increase in oxytocin receptors. The interaction of a multitude of receptors regulates the sensitivity of the myometrium to stimulatory agents. All these mechanisms are regulated by the concentration of free intracellular cytosolic calcium. When the concentration increases, myometrial cells contract and, conversely, when the concentration decreases, myometrial cells relax. While the free intracellular concentration fluctuates with contractility, the extracellular calcium concentration remains relatively constant. Although the mechanisms controlling the changes in free intracellular calcium concentrations are not well understood, oxytocin is known to increase calcium intake.

On the basis of these considerations, both tocolytic agents and cervical cerclage are used to treat cervical incompetence in women who have conceived by ICSI. However, there is some controversy concerning the diagnosis of treatment of cervical incompetence, partly due to inconsistent results from studies on the use of cervical cerclage to treat recurrent second trimester pregnancy loss due to cervical incompetence.

The aim of the present study was to compare the effectiveness of two tocolytic agents, atosiban and ritodrine, in preventing pre-term delivery in ICSI pregnancies undergoing cervical cerclage for cervical incompetence. Atosiban was assessed prospectively (group A), whereas group B was evaluated retrospectively, because, since 2003, ritodrine was no longer used in our clinical practice following the introduction of atosiban.

## Methods

The prospective study was conducted at the High Risk Pregnancy Unit of the Department of Emergency in Obstetrics and Gynecology – Human Reproduction, University Federico II of Naples, during a 15-month period from October 2002 to December 2003. The study was performed in 16 pregnant women, at 20–24 weeks' gestation and maternal age > 18 years, who were at risk for pre-term delivery (group A). The distribution of fetuses in the 16 pregnancies was as follows: six singleton, eight twin and two triplet pregnancies. All pregnancies resulted from ICSI.

The gestational age at recruitment was confirmed by ultrasound scan. The risk for pre-term delivery was assessed at 20–24 weeks by transvaginal scan using sonographic criteria, which included: cervical shortening to a length below the first (13 mm) and the fifth (20 mm) percentile before 24 weeks and funnelling of the internal os that occupies at least 30–40% of the total length of the cervix (funnel plus residual length) observed with or without fundal pressure. We considered the following inclusion criteria: singleton, twin or triplet pregnancies obtained by ICSI at risk for pre-term delivery for cervical shortening and dilatation assessed by transvaginal sonography, unruptured amniotic membranes and no fetal or maternal pathologies. The exclusion criteria were: ruptured membranes, major vaginal bleeding, severe pre-eclampsia, fever, major congenital fetal anomalies and serious maternal disease.

Women were submitted to cervical cerclage according to the method of McDonald (McDonald 1980). All women in group A received atosiban as a bolus dose of 6.75 mg i.v.,

followed by 300 µg/min i.v. for 3 h and 100 µg/min i.v. for 45 h. Cervical cerclage was performed 3 h from the beginning of treatment.

The results were compared with those from a retrospective study of 16 women (group B) who were treated in our clinic between January and October 2002. The women in group B were similar to those of group A with respect to age and number of fetuses for pregnancies, reproductive technique used (ICSI) and surgical treatment. The comparable clinical features of the two groups are shown in Table I. Patients in the two groups were homogeneous for parity, age, number of fetuses and uterine cervix ultrasonographic features. All patients were primigravida. Six singleton pregnancies, eight twin pregnancies and two triplets were included either in the group A or in the group B.

Transvaginal sonography was used to evaluate the uterine cervix. Cervical length shorter than 30 mm and funnelling of the cervical channel was found in all patients enrolled (MacDonald et al. 2001).

Women in group B received ritodrine hydrochloride in 5% glucose solution (100–350 µg/min) for 2 days. Cervical cerclage was performed within the first day of tocolytic treatment.

The effectiveness of the two tocolytic agents, atosiban and ritodrine, was assessed in terms of the number of women who had no complications due to uterine contractility following surgical intervention and remained undelivered after 48 h (short-term tocolysis) and 7 days (long-term tocolysis) from the beginning of treatment. Adverse events, maternal and fetal, were evaluated in addition to neonatal outcome. Statistical analyses were performed by  $\chi^2$ -test,  $\chi^2$ -test for trend and Student's *t*-test.

## Results

Pre-term rupture of membranes occurred within 48 h of the beginning of treatment in one triplet pregnancy in group A (atosiban) and one triplet, two twin and one single pregnancy in group B (ritodrine). No significant difference was found between the groups regarding short-term (48 h) and long-term (7 days) tocolytic efficacy. However, differences were observed in the incidence of adverse events in the two groups. The occurrence of maternal tachycardia was significantly higher in group B (ritodrine) compared with group A (atosiban): 15 out of 16 women

Table I. Clinical characteristics of the study population (group A) and control group (group B)

Patient features	Group A (atosiban) (n = 16)	Group B (ritodrine) (n = 16)
Mean age in years (SD)	32 (5)	32 (5)
Parity	0	0
Gestational age at recruitment (weeks)	20–24	20–24
Reproductive technology	ICSI	ICSI
Singleton	6	6
Twin	8	8
Triplet	2	2
Cervical length	< 30 mm	< 30 mm
Funnelling	> 30–40%	> 30–40%

who received ritodrine experienced tachycardia compared with only one of the 16 women treated with atosiban ( $p < 0.001$ ). Furthermore, fetal tachycardia was observed in two women treated with ritodrine compared with none treated with atosiban. Injection site reactions and maternal chest pain were also seen more frequently in women treated with ritodrine compared with those treated with atosiban (5 vs 2 for injection site reactions and 4 vs 1 for chest pain).

An evaluation of neonatal outcome (Table II) revealed that the mean gestational age at delivery differed significantly between the two groups; 36 weeks in the atosiban group compared with 33 weeks in the ritodrine group ( $p = 0.001$ ). Statistically significant differences were also seen between the two groups regarding the number of neonates with very low birth weight ( $< 1,500$  g) ( $p = 0.008$ ) and low Apgar scores ( $p = 0.005$ ). One very low birth weight neonate from a triplet pregnancy in group B (ritodrine) died. The number of neonates requiring a long stay at the neonatal intensive care unit (NICU) was also higher in the group treated with ritodrine compared with the atosiban-treated group ( $p = 0.005$ ) (see Tables II and III).

## Discussion

The primary endpoint of the effectiveness of tocolysis is the number of days from the start of therapy until delivery. In this comparison, no difference was observed between women of group A and women of group B regarding the efficacy of short-term (48 h) or long-term (7 days) tocolysis. Failure of tocolysis within the first day of therapy occurred in one woman treated with atosiban and in four women who received ritodrine. This was most probably related to surgical treatment complications, such as membrane rupture.

There is universal agreement that pre-term delivery is a major factor for perinatal mortality and morbidity. A length of stay in the NICU exceeding 1 week was seen more frequently in neonates whose mothers had been treated with ritodrine compared with those treated with atosiban. Furthermore, the gestational age at delivery was higher in

the atosiban-treated women compared with the ritodrine-treated women. These results are in accordance to the Worldwide Atosiban versus Beta Agonists Study Group Report (2001), in which the likelihood of prolongation of pregnancy was higher in women treated with atosiban compared with other tocolytics.

The benefits of the tocolytic therapy in the second trimester are not easily established in clinical trials. Pre-term birth has been demonstrated to be a heterogeneous syndrome and it is likely that other subgroups could be identified. There is no evidence-based systematic review illustrating that traditional tocolytic agents in early pregnancy are safe and useful in cases of impaired cervical function. Current approaches to tocolysis can be divided into the use of beta-agonists and newer, more uterine specific agents, such as the oxytocin receptor antagonist, atosiban. Atosiban represents an advance compared to current therapy and is a first-line tocolytic agent used in Europe (Worldwide Atosiban vs Beta-agonists Study Group 2001; Romero et al. 2000). In this comparison, data from women treated with ritodrine were evaluated retrospectively, since ritodrine is no longer used in our clinical practice.

The use of these drugs is based upon different modes of action. The mechanism of uterine relaxation by beta-agonists depends upon their direct action on the myometrium. They bind to beta-adrenergic receptors, activate adenylyl cyclase, which increases levels of cAMP. The cAMP increase then induces phosphorylation and inhibition of myosin light-chain kinase (MLCK), which is the key phosphorylation enzyme responsible of the actin-myosin interaction that results in myometrial contraction (Warrick et al. 1985).

Briefly, the control of myometrial activity depends upon the enzymatic phosphorylation of the MLCK to allow interaction with actin-forming actomyosin. Free calcium, after binding to calmodulin, is essential for MLCK activation (Okazaki et al. 1981; Olson et al. 1983; Huszar and Naftolin 1984; Challis et al. 2000). Studies in sheep have shown that interaction between oxytocin and prostaglandin contributes to myometrial contraction and cervical ripening (Huszar and Naftolin 1984). In addition, prostaglandins (PGE and PGF), which influence myometrial contractility, are produced both in the decidua and amnion. These molecules are involved in a paracrine regulation that promotes the uptake of extracellular calcium and affects the intracellular calcium pool (Challis et al. 2000; Lye and Challis 1982). Beta-agonists act through cyclic AMP-dependent protein kinases to influence MLCK activity and calcium, although their contradictory stimulatory effect on PGE and PGF in amnion cells is not completely understood.

In contrast, atosiban acts by blocking oxytocin receptors directly. Oxytocin, which seems to initiate myometrial contractility by both a direct and an indirect mechanism, directly interacts with membrane-bound receptors that lead to an increase in intracellular calcium (Challis et al. 2000; Woodcock et al. 2004). The indirect effect of oxytocin is the stimulation of prostaglandins released from decidua and fetal membranes. The prostaglandins are strictly involved in cervical ripening.

Suturing the cervix during pregnancy carries certain risks and complications, such as haemorrhage and fetal infection with amniorexis have been reported (Bibbi et al. 1979). Furthermore, attempts to suture the cervix during

Table II. Neonatal outcome in the two groups

Neonatal outcome	Group A (atosiban)	Group B (ritodrine)	Statistical significance
Gestational age at birth (weeks)	33–39	30–37	$p = 0.001^*$
Number of living fetuses at 48 h from delivery	25/25	19/20	NS
BW $< 1,500$ g <sup>†</sup>	1	6	$p = 0.008$ ( $\chi^2 = 2.98$ ) <sup>‡</sup>
BW $> 1,500$ g – $< 2,500$ g <sup>†</sup>	11	9	
BW $> 2,500$ g <sup>†</sup>	12	6	
5' Apgar score missing <sup>†</sup>			
0–3	0	1	$p = 0.005$ ( $\chi^2 = 5.87$ ) <sup>‡</sup>
4–6	7	9	
7–10	18	8	
NICU $< 1$ week	2	3	NS
NICU $> 1$ week	2	9	$p = 0.005^{\ddagger}$

\*Unpaired *t*-test. <sup>†</sup> $\chi^2$  for trend <sup>‡</sup> $\chi^2$ ; BW, birth weight; NS, not significant.

Table III. Detailed clinical characteristics and statistics in the two groups.

Atosiban group (Group A)			Ritodrine group (Group B)		
Patient	Birth weight (g)	Week at delivery	Patient	Birth weight	Week at delivery
<b>Singleton</b>					
A	2,800	37	A	2,450	35
B	3,100	39	B	2,780	37
C	3,050	39	C	1,050	30
D	2,850	38	D	1,970	31
E	2,670	37	E	Vaginal delivery within 48 h from Admission	–
F	2,280	35	F	2,620	36
<b>Twin</b>					
G	1,890–2,450	33	G	1,670–1,880	32
H	2,550–2,620	36	H	1,320–1,980	32
I	1,350–1,870	33	I	1,450–2,220	33
J	2,650–2,320	37	J	Vaginal delivery within 48 h from Admission	–
K	2,450–2,180	34	K	1,890–1,970	32
L	2,890–2,670	37	L	2,600–2,550	36
M	2,680–2,550	36	M	2,680–2,530	37
N	2,570–2,370	35	N	****	–
<b>Triplet</b>					
O	Vaginal delivery within 48 h from Admission		O	1,450–1,380–1,500	32
P	1,580–1,670–1,800	33	P	Vaginal delivery within 48 h from Admission	–
<b>Mean</b>		35.9		33.5	
<b>DS</b>		2.05		2.4	
<b>Variance</b>		4.20		6.08	
<b>df</b>				25	
<b>t</b>				2.7043	
<b>p</b>				1.213502E–02	

the second trimester probably increase prostaglandin production (Bibbi et al. 1979). Many studies regarding pre-term labour suggest that prostaglandin production is similar to that in term labour (Valenzuela et al. 2000; Challis et al. 2000). Prostanoid system activation promotes further oxytocin release, accelerating the process of parturition even in pre-term labour.

Recently, Woodcock et al. (2004) assessed the possible mechanism and effect of the oxytocin receptor on the sensitisation of the contractile uterine proteins to intracellular calcium. Oxytocin plays a key role in regulating periodic calcium signals and in the sensitivity to the contractile machinery to calcium intake. These data confirm the previous report that shows sensitivity to the selective oxytocin receptor antagonist in vitro in spontaneous contractions of myometrium from humans, non-human primates and rodents (Wilson et al. 2001).

The use of an oxytocin receptor antagonist in the mid second trimester would appear to be a good therapeutic opportunity to delay pre-term labour in women with cervical incompetence in whom prostaglandin release activates oxytocin receptors.

McDonald (1980) has shown that twins from ART have an increased risk for pre-term birth compared with spontaneously conceived twins matched for maternal age. Possible causes include infertility itself, drugs used for

ovarian stimulation and some other factors related to IVF technology (McGovern et al. 2004). Moreover, oocyte retrieval and embryo transfer procedures may lead to ovarian and cervical trauma with bleeding. These conditions may be complicated by infections leading to the related prostaglandins release able to activate oxytocin receptors increasing the risk for pre-term labour. Furthermore, it has been suggested that an anomalous immune response can be found in infertile and, in particular, in ICSI pregnancies. Patients with recurrent IVF failure have shown an alteration in the cytokine gene expression in human endometrium (Henkel and Schill 2003). Lamont (2003) has shown that an alteration of immune response expressed by endothelium damage is associated with pre-eclampsia, and that this pathology is not rare in ART pregnancies. All these conditions explain how an increased immune cytokine response can be involved in mechanisms that finally result in the cascade of prostaglandins production activating oxytocin receptors up to spontaneous pre-term labour and birth in ICSI pregnancies. Consequently, it seems more appropriate, maybe mandatory, to use an oxytocin receptor antagonist to inhibit this activation instead of drugs acting on myometrial beta-receptors, especially in ICSI pregnancies.

On the basis of these considerations, we have initiated this study to investigate the role of therapy with atosiban

alone vs cerclage plus atosiban. Unlike beta-agonists, such as ritodrine, which are associated with fetal and maternal adverse effects, atosiban has a favourable safety profile and is not associated with unacceptable side-effects.

Recently, evidence-based labour ward guidelines for the diagnosis, management and treatment of spontaneous pre-term labour concluded that every case of spontaneous pre-term labour is a unique situation (Lamont 2003). Our study population consisted of pregnancies obtained by medically-assisted procreation. Some of the pregnancies were twin or triplet. Pre-term labour is at least 12 times more common in multiple gestations than in singleton pregnancies and ART has led to an increase in the number of multiple gestations. Twins resulting from selective reduction of high-order multifetal gestations are typically born earlier and weigh less than those who began their pregnancy as twins. Furthermore, multiple gestations carry a much higher incidence of many other maternal and fetal complications.

Higher-order births are also associated with a major maternal plasma volume expansion and secondary hyperaldosteronism (Lamont 2000). Moreover, the risk of pulmonary oedema for the mother is higher in multiple gestations, particularly when administering tocolytic therapy with beta-agonists combined with fluid therapy. Beta-agonists increase both aldosterone and renin levels in twin pregnancies and may potentiate the risk of pulmonary oedema. Therefore in multiple pregnancies, an alternative tocolytic should be used (Lamont 2000).

Oxytocin is likely to play an important role in human labour. Our findings and those of other authors support the use of oxytocin antagonists to effectively inhibit this process in the mid second trimester, particularly when the prostanoid cascade is activated, such as in the case of cervical incompetence requiring surgical treatment. Moreover, it should be emphasised that many studies confirmed that atosiban is well tolerated with favourable safety for both mother and fetus (Worldwide Atosiban vs Beta-agonists Study Group 2001; Romero et al. 2000; Valenzuela et al. 2000; Lamont 2003; Moutquin et al. 2000).

In view of the promising outcome and reliable safety, atosiban should be considered the first-line tocolytic agent for the management of spontaneous pre-term delivery in women at risk in the second trimester. Atosiban is particularly valuable for treatment of women with premature uterine sensitivity to oxytocin, especially in pregnancies arising from ART.

## References

- Bibbi JG, Bront J, Mitchell MD, Anderson ABM, Turnbull AC. 1979. The effect of cervical cerclage on plasma prostaglandin concentration during early human pregnancy. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 86:19–22.
- Bleasdale JE, Okazaki T, Sagawa N. 1983. The mobilization of arachidonic acid for prostaglandin production during parturition. In: MacDonald PO, Porter J, editors. *Ross Laboratories. 4th Ross Conference on Obstetric Research, Initiation of parturition: prevention of prematurity*, 1983, p 129.
- Challis JRG, Matthews SG, Gibb W, Lye SJ. 2000. Endocrine and paracrine regulation of birth at term and pre-term. *Endocrine Reviews* 21:514–550.
- Di Renzo GC, Venincasa MD, Bleasdale JE. 1984. The Identification and characterization of beta-adrenergic receptors in human amnion tissue. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 148:398–405.
- Guzman ER, Walter SC, Ananth CV, O'Reilly Green C, Benito CW et al. 2001. A comparison of sonographic cervical parameters in predicting spontaneous pre-term birth in high-risk singleton gestation. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 18:204–210.
- Hall MH, Danielian P, Lamont RF. 1997. The importance of pre-term birth. In: Elder MG, Lamont RF, Romero R, editors. *Pre-term labour*. New York: Churchill-Livingstone, p 1–28.
- Hassan SS, Romero R, Berry SM, Dang K, Blackwell SC, Treadwell MC et al. 2000. Patients with an ultrasonographic cervical length  $\leq 15$  mm have nearly a 50% risk of early spontaneous pre-term delivery. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 182:1458–1467.
- Henkel RR, Schill WB. 2003. Sperm preparation for ART. *Reproductive Biology and Endocrinology* 1:108–112.
- Huszar G, Naftolin F. 1984. The myometrium and uterine cervix in normal and pre-term labor. *New England Journal of Medicine* 311:571–581.
- Lamont RF. 2000. The pathophysiology of pulmonary oedema with the use of beta-agonists. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 107:439–444.
- Lamont RF. 2003. International Pre-term Labour Council. Evidence-based labour ward guidelines for the diagnosis, management and treatment of spontaneous pre-term labour. *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 23:469–478.
- Lopez-Bernal A, Tamby Raja RL. 2000. Pre-term labour. *Balliere's Best Practice and Research in Clinical Obstetrics and Gynaecology* 14:133–153.
- Lye SJ, Challis JRG. 1982. Inhibition by PGI-2 of myometrial activity in vivo in non-pregnant ovariectomized sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 66:311–315.
- MacDonald R, Smith P, Vyas S. 2001. Cervical incompetence: the use of transvaginal sonography to provide on objective diagnosis. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 18:211–216.
- McDonald IA. 1980. Cervical cerclage. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 7:461–479.
- McGovern PG, Lorens AJ, Skurnik JH, Weiss G, Goldsmith LT. 2004. Increased risk of pre-term birth in singleton pregnancies resulting from in vitro fertilization-embryo transfer or gamete intrafallopian transfer: a meta-analysis. *Fertility and Sterility* 82:1514–1520.
- Moutquin JM, Sherman D, Cohen H, Mohide PT, Hochner-Celnikier D, Feigin M et al. 2000. Double-blind randomized, controlled trial of atosiban and ritodrine in the treatment of pre-term labor: a multicenter effectiveness and safety study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 182:1191–1199.
- Okazaki T, Casey ML, Okita JR, Macdonald PC, Johnston JM. 1981. Initiation of human parturition. XII. Biosynthesis and metabolism of prostaglandins in human fetal membranes and uterine decidua. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 139:373–381.
- Olson DM, Opavsky MA, Challis JRG. 1983. Prostaglandin synthesis by human amnion is dependent upon extracellular calcium. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 61:1089–1092.
- Perri T, Chen R, Yoeli R, Merlob P, Orvieto R, Shalev Y et al. 2001. Are singleton assisted reproductive technology pregnancies a risk of prematurity? *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 18:245–249.
- Romero R, Sibai BM, Sanchez-Ramos L, Valenzuela GJ, Veille JC, Tabor B et al. 2000. An oxytocin receptor antagonist (atosiban) in the treatment of pre-term labor: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial with tocolytic rescue. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 182:1173–1183.
- Valenzuela GJ, Sanchez-Ramos L, Romero R, Silver HM, Koltun WD, Millar L et al. The Atosiban PTL-098 Study Group. 2000. Maintenance treatment of pre-term labor with the oxytocin antagonist atosiban. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 182:1184–1190.

- Warrick C, Skiner K, Mitchell BF, Challis JRG. 1985. Role of cAMP in prostaglandin (PG) production in human amnion and deciduas. Abstract. Society for Gynecological Investigation, Annual Meeting, 1985, Phoenix, Arizona.
- Wilson RJ, Allen MJ, Nandi M, Giles H, Thornton S. 2001. Spontaneous contractions of myometrium from humans, non-human primate and rodents are sensitive to selective oxytocin receptor antagonism in vitro. *British Journal Obstetrics and Gynaecology* 108:960–966.
- Woodcock NA, Taylor CW, Thornton S. 2004. Effect of an oxytocin receptor antagonist and rho kinase inhibitor on the  $[Ca^{++}]_i$  sensitivity of human myometrium. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 190:222–228.
- Worldwide Atosiban vs Beta-agonists Study Group. 2001. Effectiveness and safety of the oxytocin antagonist atosiban versus beta-adrenergic agonists in the treatment of pre-term labour. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 108:133–142.



### **3.2 RUOLO DEL TRATTAMENTO RIPETUTO CON ATOSIBAN NELLA PREVENZIONE DEL PARTO PRE-TERMINE NELLE GRAVIDANZE GEMELLARI CON PERSISTENTE RIDUZIONE DELLA LUNGHEZZA CERVICALE**

Lo scopo dello studio è valutare l'efficacia del trattamento ripetuto con Atosiban nelle gravidanze gemellari a rischio di parto pretermine.

62 pazienti con gravidanza gemellare bicoriale e lunghezza cervicale  $< 25$  mm a 24 settimane sono state sottoposte a trattamento con Atosiban. Una lunghezza cervicale  $< 25$  mm dopo due settimane rappresentava indicazione ad un secondo trattamento con Atosiban. E' stata considerata l'epoca gestazionale al parto; inferiore o superiore a 34 settimane. I risultati ottenuti sono stati confrontati col test t di Student.

Tutte le pazienti presentavano una lunghezza cervicale post-trattamento  $> 25$ mm, che solo in 16 pazienti (Gruppo A) rimaneva invariata dopo due settimane. 19 pazienti hanno rifiutato la ripetizione del trattamento (Gruppo B1). 27 pazienti (Gruppo B2) sono state sottoposte ad un nuovo ciclo di terapia. Il gruppo B1 (32.9 settimane) ha mostrato una durata della gravidanza inferiore al gruppo B2 (35.7 settimane) ( $p < 0.05$ ). Non ci sono differenze nella durata della gravidanza tra i gruppi A (35.0 sett.) e B2 ( $p > 0.05$ ).

La ripetizione del trattamento con Atosiban nelle gravidanze gemellari con persistente rischio di parto pretermine sembra prolungare la durata della gravidanza. La efficacia della misurazione della lunghezza cervicale nella predizione del parto pretermine è ulteriormente confermata.

**In sottomissione**

## **RUOLO DEL TRATTAMENTO RIPETUTO CON ATOSIBAN NELLA PREVENZIONE DEL PARTO PRE-TERMINE NELLE GRAVIDANZE GEMELLARI CON PERSISTENTE RIDUZIONE DELLA LUNGHEZZA CERVICALE.**

Locci M., Nazzaro G., Poppiti R., Miranda M., Pisaturo M.L., Merenda A., D'Errico L., De Placido G.

Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Area Funzionale di Chirurgia Ostetrica e Ginecologica, Laparotomia ed Endoscopica, Centro di Sterilità ed Infertilità di Coppia.

### **Introduzione**

Il parto pretermine complica il 5-10% delle gravidanze (10) ed è la principale causa di mortalità e morbidità neonatale (2). E' nota la correlazione inversa esistente tra le settimane al parto e la morbidità-mortalità neonatale. La sopravvivenza al parto è inferiore al 5% prima della 23° settimana raggiungendo il 95% dopo la 32° settimana (8). Parimenti, la morbidità decresce dal 60% per i nati prima della 23° settimana a meno del 5% dopo la 32° settimana (25). Nelle gravidanze gemellari, tale problematica riveste un ruolo ancor più importante: infatti, nelle gravidanze singole, la percentuale di parto prima della 32° settimana è dell'1-2% mentre è pari al 5-10% nelle gravidanze gemellari (20).

Inoltre, è di particolare rilievo considerare che l'incidenza delle gravidanze plurime è aumentata negli ultimi 25 anni. Tale fenomeno è da attribuirsi, verosimilmente, in parte all'aumentato utilizzo delle tecniche di fecondazione assistita ed in parte, al progressivo aumento della percentuale di gravide di età superiore ai 35 anni (13). E' evidente che, considerata l'ampiezza del fenomeno, strategie di prevenzione del parto pretermine diventino sempre più fondamentali. Tuttavia, malgrado il notevole interesse prestato dai ricercatori negli ultimi decenni, non si è ottenuta una riduzione sensibile dell'incidenza del parto pretermine, probabilmente a causa dell'ampia disomogeneità nei comportamenti preventivi, nei protocolli terapeutici e nella individuazione e valutazione dei fattori di rischio. Tra questi ultimi, un ruolo cruciale sembra essere svolto dalla misurazione della lunghezza cervicale. Vari studi (11) hanno accertato la relazione lineare esistente tra lunghezza cervicale e rischio di parto pretermine. La valutazione mediante ecografia transvaginale della lunghezza della cervice uterina è, infatti, in grado di identificare con buona sensibilità le pazienti a rischio di parto pretermine (26, 27).

L'epoca gestazionale per la valutazione del dato e il cut-off della lunghezza cervicale (6, 12, 9, 5, 21, 22) per la gravidanza gemellare è diverso a seconda dei vari studi.

L'approccio terapeutico alla prevenzione e alla cura del parto pretermine è basato sull'impiego di diversi agenti tocolitici. Recenti evidenze scientifiche (3, 7, 14, 15, 17, 18, 23, 24) hanno mostrato che l'Atosiban garantisce un'efficacia comparabile ai beta mimetici, ma con una maggiore tollerabilità, grazie alla sua peculiare e specifica azione di antagonismo sui recettori dell'ossitocina, anche nelle gravidanze bigemine. Tale dato rivestirebbe quindi un ruolo fondamentale proprio in queste ultime, in cui l'uso dei beta agonisti è controindicato. Infatti, incrementare i livelli di renina ed aldosterone in una gravidanza già associata ad un maggiore volume plasmatico materno e ad iperaldosteronismo secondario, può aumentare ulteriormente il rischio di edema polmonare.

Tuttavia, le gravidanze bigemine pongono un serio problema di durata della gravidanza, e, l'esperienza clinica mostra che non sempre un singolo trattamento tocolitico con agonisti recettoriali dell'ossitocina sia sufficiente ad assicurare una durata adeguata della gravidanza.

Scopo dello studio è stato valutare l'efficacia di un secondo trattamento con Atosiban in gravidanze gemellari con persistente rischio di parto pretermine valutato attraverso la misurazione della lunghezza cervicale.

## Materiali e metodi

62 pazienti primigravide con gravidanza gemellare bicoriale alla 24a settimana di gestazione, di età compresa fra 28 e 34 anni sono state selezionate presso il nostro Centro di Gravidanza a Rischio, tra il 2003 ed il 2006. Tutte le pazienti non mostravano evidenza clinica o tocografica di attività contrattile uterina. In tutte le pazienti è stata dimostrata l'assenza di patologie materno-fetali e assenza di infezioni rilevabili al tampone vaginale eseguito all'ammissione allo studio. Tutte le pazienti sono state sottoposte ad ecografia transvaginale per la misurazione della lunghezza cervicale e valutazione della presenza/assenza di funneling (svasamento ad imbuto dell'OUI) (Fig.1). Per una buona riproducibilità della tecnica dovevano essere soddisfatti i seguenti criteri: 1) OUI piatto o triangolare; 2) canale cervicale interamente visibile; 3) OUE simmetrico; 4) labbro anteriore e posteriore della cervice dello stesso spessore del canale cervicale. Tali valutazioni ecografiche sono state ripetute alla 26a, alla 30a e alla 34a settimana di gestazione. Le pazienti con lunghezza cervicale < 25mm (Fig. 2) con o senza funneling sono state considerate a rischio di parto pretermine e sottoposte a trattamento con Atosiban, alla 24a settimana di gestazione, secondo il seguente protocollo: bolo da 6,75 mg endovena seguito da un'infusione continua di 300ug/min e.v. per 3 ore e di 100 ug/min e.v. per le successive 45 ore.

Una lunghezza cervicale < 25 mm alla 26a settimana rappresentava indicazione ad un secondo trattamento con Atosiban.

Nessuna paziente è stata sottoposta ad ulteriori trattamenti farmacologici e/o chirurgici per la prevenzione del parto pretermine.

L'efficacia terapeutica del trattamento è stata valutata in termini di epoca gestazionale al parto; inferiore o superiore alla 34a settimana.

I risultati ottenuti sono stati valutati col test t di Student per dati non appaiati.

## Risultati

In tutte le pazienti è stato rilevato a fine trattamento un recupero della lunghezza cervicale che risultava essere > 25mm (Fig. 3) (Fig. 4). Alla valutazione della cervice dopo due settimane dalla dimissione 16 pazienti (Gruppo A) non hanno necessitato di un secondo ciclo di Atosiban in quanto la lunghezza cervicale è risultata > 25 mm. Nelle rimanenti 46 pazienti (Gruppo B), dopo l'iniziale recupero, la lunghezza cervicale risultava essere < 25 mm. A tali pazienti è stato proposto un secondo ciclo di terapia con Atosiban. Di queste, 19 pazienti hanno rifiutato la ripetizione del trattamento (Gruppo B1): 3 per l'insorgenza di effetti indesiderati durante la somministrazione del farmaco (rush cutaneo, cefalea, vomito), 6 si sono rivolte ad altre strutture ospedaliere essendo residenti in altra regione e 10, essendo asintomatiche, non avvertivano la necessità di un secondo trattamento. Le rimanenti 27 pazienti del gruppo B (Gruppo B2) sono state sottoposte ad un nuovo ciclo di terapia. In tali pazienti, al controllo post-trattamento, è stata evidenziata una lunghezza cervicale > 25mm. Tale reperto si dimostrava invariato al controllo a 30 settimane e, nelle pazienti che non avevano ancora partorito, al controllo a 34 settimane (Fig. 5).

Del Gruppo A, 13 hanno espletato il parto in un'epoca maggiore di 34 settimane (valore medio 35.0 sett.), 3 al di sotto della 34° settimana, di cui una a 30 settimane per rottura prematura delle membrane (Tabella I). Nel Gruppo B1 l'epoca gestazionale al parto è stata, in 13 casi inferiore alle 34 settimane ed in 6 casi superiore alle 34 settimane (valore medio 32.9 settimane) (Tabella I).

Nel Gruppo B2, in 25 casi l'espletamento del parto è avvenuto dopo la 34° settimana, in 2 casi prima della 34° settimana (valore medio 35.7 settimane). Il t test per dati non appaiati ha dimostrato una differenza statisticamente significativa tra l'epoca gestazionale al parto delle pazienti del gruppo B1 e B2 ( $p < 0.05$ ) (Tabella I). Tale differenza non è risultata statisticamente significativa nel confronto tra il gruppo A e B2 ( $p > 0,05$ ) (Tabella I).

## Discussione

Goldenberg nel 1996 (6) ha condotto uno studio su 147 gravidanze gemellari con valutazione ecografica della lunghezza cervicale tra 24 e 28 settimane evidenziando un aumentato rischio di parto prima delle 32 settimane per una lunghezza cervicale < di 25mm. Imseis nel 1997 (12) ha definito come gravidanze bigemine a basso rischio di parto prima della 34<sup>o</sup> settimana quelle in cui le pazienti presentavano tra 24 e 26 settimane una lunghezza cervicale > di 35mm. Guzman nel 2000 (9) indica come predittiva di parto pretermine nelle gravidanze gemellari una lunghezza cervicale < di 2cm valutata tra 15 e 28 settimane. Gibson nel 2004 (5) conferma il valore della valutazione mediante ecografia transvaginale della lunghezza cervicale nella individuazione delle gravidanze gemellari a rischio di parto pretermine; una lunghezza cervicale < di 25mm a 18 settimane e < di 22 mm a 24 settimane sono indicativi per parto prima delle 35 settimane. Sperling nel 2005 (21) conferma i dati di Souka del 1999 (22) suggerendo di effettuare la valutazione della lunghezza cervicale a 23 settimane e pone come cut-off 25mm (Tabella II). Molto spesso, le modifiche cervicali, vengono affrontate chirurgicamente, laddove non esiste una evidenza clinica incontrovertibile dell'efficacia del trattamento chirurgico. Infatti, in un precedente studio abbiamo confrontato l'efficacia dell'Atosiban e della Ritodrina associata al cerchiaggio cervicale per la prevenzione del parto pretermine nelle gravidanze a rischio ottenute da ICSI. I risultati hanno confermato che oltre una migliore tollerabilità anche una migliore efficacia dell'Atosiban in termini di epoca gestazionale al parto ed outcome neonatale rispetto alla Ritodrina ed al cerchiaggio cervicale (14).

Le modifiche cervicometriche nella minaccia di parto pretermine sono, senza dubbio, il prodotto di una serie di meccanismi fisiopatologici che vedono coinvolti numerose vie ormonali.

E' noto come l'eziopatogenesi del parto pretermine sia multifattoriale con attivazione finale degli stessi meccanismi che conducono al parto a termine.

Nella gravidanza gemellare la maggiore incidenza di parto pre-termine ci suggerisce come in questi casi potrebbero essere coinvolti dei fattori aggiuntivi; uno di questi è sicuramente la sovradistensione uterina che potrebbe essere causa di una prematura sensibilità uterina all'ossitocina (19). Questa, secreta dalla neuroipofisi in maniera pulsatile, ma anche dalla placenta, dalle ovaie e dalle membrane fetali, svolge un ruolo importante nell'iniziazione del parto, sia pretermine che a termine (1). Tale ormone stimola sia la frequenza che la forza dell'attività contrattile uterina legandosi ai recettori di membrana presenti sulla superficie delle cellule miometriali in cui determina un incremento della concentrazione di calcio intracellulare; inoltre induce il rilascio di prostaglandine da parte della decidua e delle membrane fetali.

Le prostaglandine oltre ad aumentare la contrattilità uterina aumentano la concentrazione di recettori dell'ossitocina sulle cellule miometriali (16). Sembrerebbe che il parto pretermine sia dovuto ad un precoce aumento dei recettori per l'ossitocina nel miometrio come avviene nel parto a termine (14).

L'Atosiban è un antagonista competitivo dell'ossitocina; agisce a livello dei recettori del miometrio, della decidua e delle membrane fetali attraverso un'inibizione dose dipendente della contrattilità uterina. L'affinità dell'Atosiban per i recettori dell'ossitocina è dieci volte minore rispetto all'ossitocina endogena (4); per cui le dosi terapeutiche devono essere sufficienti a determinare una concentrazione plasmatica del farmaco dieci volte maggiore rispetto all'ossitocina endogena.

I risultati del nostro studio dimostrano come il monitoraggio della lunghezza cervicale e l'eventuale ripetizione del trattamento con Atosiban nelle gravidanze gemellari a rischio di parto pretermine prolunghi la durata della gravidanza migliorando l'outcome neonatale.

In particolare, sottolinea l'importanza di effettuare un secondo ciclo di terapia in presenza delle indicazioni cervicometriche precedentemente descritte.

Nelle gravidanze gemellari è ipotizzabile un maggior rilascio di ossitocina tale da superare l'azione antagonista del farmaco o è possibile che esista una maggiore concentrazione di recettori per l'ossitocina stessa, per cui il farmaco non riesce a impedire l'azione dell'ossitocina endogena se somministrato alla dose standard. Sulla scorta di tali considerazioni e considerando i nostri risultati,

un secondo trattamento con Atosiban, ove ne esistano le condizioni e permangano i fattori di rischio, sembra consigliabile nelle gravidanze gemellari.

## **Bibliografia**

- 1) Chibbar R, Miller FD, Mitchell BF. Synthesis of oxytocin in amnion, chorion, and deciduas may influence timing of human parturition. *J Clin Invest* 1993;91:185-92.
- 2) Copper RL, Goldenberg RL, Creasy RK, DuBard MB, Davies RO, Entman SS, et al. A multicenter study of preterm birth weight and gestational age-specific neonatal mortality. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 78-84.
- 3) Di Renzo GC, Roura LC and the European Association of Perinatal Medicine-Study Group on "Preterm Birth". Guidelines for the management of spontaneous preterm labour. *J. Perinat. Med.* 2006; 34: 359-366.
- 4) Elder MG, DScMD, FRCS, FRCOG. New perspectives for the effective treatment of preterm labour- an international consensus. *Research and clinical forums* Vol 16 No 3.
- 5) Gibson JL, Macara LM, Owen P, Young D, Macauley J and Mackenzie F. Prediction of preterm delivery in twin pregnancy: a prospective, observational study of cervical length and fetal fibronectin testing. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004;23:561-566.
- 6) Goldenberg RL, Iams JD, Miodovnik M, Van Dorsten JP, Thunnaue G, Bottoms S, et al. The preterm prediction study: risk factors in twin gestation. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1047-53.
- 7) Goodwin TM, Valenzuela G, Silver H, Hayashi R, Creasy GW; Lane R,. Treatment of preterm labor with the oxytocin antagonist atosiban. *Am J Perinatol* 1996; 13:143-146.
- 8) Guyer B, Martin JA, MacDorman MF, Anderson RN, Strobino DM. Annual summary of vital statistics-1996. *Pediatrics* 1997; 100: 905-18.
- 9) Guzman ER, Walters C, O'Reilly-Green C, Kinzler WL, et al. Use of cervical ultrasonography in the prediction of spontaneous preterm birth in twin gestations. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1103-1107.
- 10) Hall M.H., Danielian P. and Lamont R.F.,(1997) The importance of preterm birth. *Preterm Labour*, edited by Elder M.G., Lamont R.F. and Romero R., 1-28. New York, Churchill Livingstone.
- 11) Hartmann K, Thorp JM, McDonald TL, Savitz DA, Granados JL. Cervical dimensions and risk of preterm birth: a prospective cohort study. *Obstet Gynecol* 1999;93:504-509.
- 12) Imseis HM, Albert TA, Iams JD,. Identifying twin gestations at low risk for preterm birth with transvaginal ultrasonographic cervical measurement at 24 to 26 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:1149-1155.
- 13) Jewell SE, Yip R: Increasing trends in preterm births in the United States. *Obstet Gynecol* 1995;85:229-232.
- 14) Locci M, Nazzaro G, Merenda A, Pisaturo ML, Laviscio P, Poppiti R, Miranda M, Stile A, De Placido G. Atosiban vs ritodrine used prophylactically with cerclage in ICSI pregnancies to prevent pre-term birth in women identified as being at high risk on the basis of transvaginal ultrasound scan. *J of Obstet Gynecol*, 2006;26(5):396-401.
- 15) Lo Dico G, Fasullo P, Cascio R, Mercadante T, Pollina A, Lucido AM. Impiego dell'Atosiban nella minaccia di parto prematuro. *Giorn. It. Ost. Gin. Sett* 2006; Vol XXVIII-n.9.
- 16) Melin P. Oxytocin antagonists in preterm labour and delivery. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1993;7:577-600.

- 17) Moutquien RF, Sherman D, Cohen H, Mohide PT, et al. Double-blind randomized controlled trial of atosiban and ritodrine in the treatment of preterm labor: a multicenter effectiveness and safety study. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182 (2):1191-119.
- 18) Romero R, Sibai BM, Sanchez-Ramos L, Valenzuela G, Veille JC, Tabor B, et al. A double-blind placebo-controlled trial of an oxytocin receptor antagonist (Antocin) in the treatment of preterm labour. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:1173-1183.
- 19) Rouse DJ, Skopec GS, Zlatnik FJ. Fundal Height as a predictor of preterm twin delivery. *Obstet Gynecol* 1993;81:211-214.
- 20) Sebire NJ, Snijders RJM, Hughes K, Supulveda W, Nicolaides KH. The Hidden mortality of monochorionic twin pregnancies. *BJOG* 1997;104:1203-7.
- 21) Sperling L, Kiil C, Larsen LU, Qvist I, Bach D, et al. How identify twin at low risk of spontaneous preterm delivery. *Ultrasound Obstet and Gynecol* 2005; 26 (2): 138-44.
- 22) Souka AP, Heath V, Flint S, Sevastopoulou I, Nicolaides KH. Cervical Length at 23 weeks' gestation. *Obstet Gynecol* 1999;94:450-454.
- 23) The atosiban study group, Goodwin TM, Valenzuela G, Silver H, Creasy G. Dose ranging study of the oxytocin antagonist atosiban in the treatment of preterm labor. *Obstet Gynecol* 1996;88:331-336.
- 24) The World Atosiban versus Beta-agonists Study Group: Effectiveness and safety of the oxytocin antagonist atosiban versus beta adrenergic agonist in the treatment of preterm labour. *Br J Obstet Gynaecol* 2001;108:133-142.
- 25) Tin W, Wariyar U, Hey E. Changing prognosis for babies of less than 28 weeks' gestation in the north of England between 1983 and 1994. Northern Neonatal Network. *BMJ* 1997;314: 107-11.
- 26) TO MS, Skentou C, Liao AW, Cacho A, Nicolaides KH. Cervical length and funnelling at 23 weeks of gestation in the prediction of spontaneous early preterm delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 18:200-203.
- 27) TO MS, Skentou C, Royston P, Yu CKH, Nicolaides KH. Prediction of patient-specific risk of early preterm delivery using maternal history and sonographic measurement of cervical length: a population-based prospective study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006;27

### **3.3 MODIFICHE ECOGRAFICHE DELLA CERVICE UTERINA DOPO TRATTAMENTO CON ATOSIBAN**

La valutazione ecografica della cervice, mediante sonda transvaginale, ha evidenziato l'importanza del collo dell'utero nelle dinamiche del parto pretermine, dimostrando come la continenza cervicale sia una variabile proporzionale alla lunghezza del canale cervicale. Un altro parametro di valutazione ecografica è lo svasamento ad imbuto dell'orificio uterino interno attraverso il quale protrudono le membrane amniotiche, detto "funneling". La sua presenza abbinata alla riduzione in lunghezza del canale cervicale sarebbe responsabile di prognosi sfavorevole. La sensibilità dello screening cervicale mediante ecografia transvaginale è però troppo scarsa (29%) per proporre l'impiego routinario, in assenza di sintomi o fattori di rischio. Importante quindi la determinazione ecografica della lunghezza cervicale, per la prevenzione del parto pretermine in pazienti ad alto rischio. L'unico approccio terapeutico per la prevenzione e la cura della minaccia di parto pretermine è rappresentato dalla terapia tocolitica. Dalle più recenti evidenze scientifiche riportate in letteratura è emerso che l'agente tocolitico di prima scelta è rappresentato da un nuovo principio attivo che agisce come antagonista competitivo dell'ossitocina (Atosiban).

In questo studio valutiamo e confrontiamo le modifiche della lunghezza cervicale rilevate ecograficamente prima e dopo terapia tocolitica.

## MODIFICHE ECOGRAFICHE DELLA CERVICE UTERINA DOPO TRATTAMENTO CON ATOSIBAN

MIRANDA M., NAZZARO G., MERENDA A., D'ERRICO L., POPPITI R., DE PLACIDO G., LOCCI M.

*Dip. Gin. ed Ost. Università Federico II - Napoli - Italy*

### INTRODUZIONE

La minaccia di parto pretermine interessa l'8-12% delle gestanti ed è responsabile del 75-80% della morbidità e mortalità neonatale. (1, 2, 3) Ancora oggi tuttavia nella pratica clinica il parto pretermine rappresenta sicuramente la patologia della gravidanza caratterizzata dalla maggiore disomogeneità nei comportamenti preventivi, incertezza nei criteri di diagnosi, estrema variabilità nei protocolli terapeutici. Negli ultimi anni la ricerca epidemiologica, biologica e clinica ha fatto segnare straordinari passi in avanti nella comprensione del parto pretermine. Per prevenire o ridurre la mortalità e la morbidità perinatale, è di fondamentale importanza la diagnosi corretta di minaccia di parto pretermine, in modo da consentire di: 1) selezionare le gravide con età gestazionale < 34 settimane per le quali è opportuna una terapia tocolitica che ritardi il parto di almeno 24-48 ore per l'induzione della maturità polmonare fetale e l'eventuale "trasferimento in utero" ad un centro di terapia intensiva neonatale; 2) selezionare i casi in cui il parto è indicato e programmare una adeguata assistenza perinatale; 3) evitare terapie inutili o pericolose, ricoveri ospedalieri e/o riposo a gestanti che non sono a reale rischio di parto pretermine con notevole riduzione dei costi. La diagnosi di minaccia di parto pretermine non è facile in quanto, basandoci solamente sui sintomi e sulla valutazione clinica è spesso impossibile distinguere precocemente il vero dal falso travaglio e/o identificarne i motivi scatenanti. Lo dimostra l'osservazione che in studi randomizzati sull'efficacia tocolitica, circa il 50% delle gestanti con minaccia di parto pretermine, trattate con placebo, partorisce a termine (4).

La diagnosi del travaglio pretermine è data dalla dimostrazione di due elementi coesistenti: attività contrattile uterina persistente e modificazioni cervicali. Tali elementi costituiscono tuttavia una identificazione tardiva che potrebbe vanificare l'intervento terapeutico. Un valido contributo alla diagnosi della minaccia di parto pretermine può venire oggi dalla identificazione dei cosiddetti "predittori secondari" di parto pretermine quali: l'ecografia transvaginale, per la valutazione della cervice uterina, e l'identificazione della fibronectina fetale a livello del liquido cervicale (5). La valutazione ecografica della cervice, mediante sonda transvaginale, ha evidenziato l'importanza del collo dell'utero nelle dinamiche del parto pretermine, dimostrando come la continenza cervicale sia una variabile proporzionale alla lunghezza del canale cervicale. Un altro parametro di valutazione ecografica è lo svasamento ad imbuto dell'orificio uterino interno attraverso il quale protrudono le membrane amniotiche, detto "funneling". La sua presenza abbinata alla riduzione in lunghezza del canale cervicale sarebbe responsabile di prognosi sfavorevole. La sensibilità dello screening cervicale mediante ecografia transvaginale è però troppo scarsa (29%) per proporre l'impiego routinario, in assenza di sintomi o fattori di rischio (6). Importante quindi la determinazione ecografica della lunghezza cervicale, per la prevenzione del parto pretermine in pazienti ad alto rischio. Una lunghezza cervicale < 10 percentile (25 mm) o un funneling > 50%, comporta un rischio di parto pretermine di 6 volte superiore rispetto a quello di una lunghezza cervicale pari al 75° percentile (30 mm) (7). L'epoca gestazionale per la valutazione del dato e il cut-off per la gravidanza singole è diverso a seconda dei vari studi effettuati. To et al nel 2001 indica come predittiva di parto pretermine una lunghezza cervicale < di 25cm valutata in epoca < a 28 settimana e tra 28 e 30 settimana di gestazione, e una lunghezza cervicale < 15 cm valutata a 23 settimane di gestazione (8).



Pertanto la valutazione mediante ecografia transvaginale della cervice uterina è in grado di identificare con buona sensibilità le donne a rischio di parto pretermine. L'unico approccio terapeutico per la prevenzione e la cura della minaccia di parto pretermine è rappresentato dalla terapia tocolitica. Dalle più recenti evidenze scientifiche riportate in letteratura è emerso che l'agente tocolitico di prima scelta è rappresentato da un nuovo principio attivo che agisce come antagonista competitivo dell'ossitocina (Atosiban).

In questo studio valutiamo e confrontiamo le modifiche della lunghezza cervicale rilevate ecograficamente prima e dopo terapia tocolitica.

#### MATERIALI E METODI

Abbiamo condotto uno studio prospettico su 45 pazienti con gravidanza singola, affette da minaccia di parto pretermine, consecutivamente ammesse al nostro Reparto di Gravidanza a Rischio dell'Area funzionale di Chirurgia Ostetrica e Ginecologica, Laparotomica ed Endoscopica, Centro di Sterilità e Infertilità di coppia dell'Università "Federico II" di Napoli dal gennaio 2003 a febbraio 2004, secondo i seguenti criteri: 1) età gestazionale compresa tra 24 e 34 settimane; 2) attività contrattile uterina regolare (contrazioni di durata > 30 sec, frequenza > 4 contrazioni ogni 30 minuti); 3) lunghezza cervicale, al ricovero, < 25 mm all'ecografia transvaginale e/o funneling e membrane integre. Le pazienti venivano trattate secondo i protocolli standards di utilizzo dell'Atosiban per un massimo di 48 ore. Al bolo di Atosiban somministrato in un minuto attraverso iniezione e.v. di 6.75 mg da 0.9 ml, seguiva un'infusione di 7.5 mgx2 in 500 cc di fisiologica a 120 ml/min di carico per tre ore e, nelle successive 24 ore di mantenimento, a 40 ml/min. Tutte le pazienti sono state sottoposte a profilassi di Liggins per la prevenzione della sindrome da distress respiratorio, e a tampone vaginale ed eventuale terapia antibiotica mirata.

L'efficacia, in termini di recupero di lunghezza cervicale, dell'Atosiban nell'inibizione del parto pretermine è stata valutata a fine trattamento mediante ecografia transvaginale.

La valutazione dei dati è stata effettuata con il test *t* di Student (Tabella 1).

#### RISULTATI

La lunghezza cervicale al ricovero era compresa tra 21 mm 25 mm (valore medio 22 mm). 8 pazienti presentavano funneling. Dopo trattamento tocolitico la lunghezza cervicale media era 38 mm (range 36-40 mm). Il *t* test per dati appaiati ha dimostrato una differenza statisticamente significativa tra le lunghezze cervicali pre e post-trattamento ( $p < 0.05$ ). Il funneling non era più rilevabile in nessuno dei casi esaminati. 37.2 settimane di gestazione è stata l'epoca media al parto.

#### CONCLUSIONI

L'Atosiban è un antagonista competitivo dell'ossitocina, ormone rilasciato in maniera pulsatile dall'ipofisi, che stimola sia la frequenza sia la forza dell'attività contrattile nella muscolatura liscia dell'utero. Gli effetti dell'Atosiban sono conseguenti all'azione di competizione "diretta" rispetto all'ossitocina a livello dei recettori presenti sulla superficie delle cellule miometriali, e di quelli presenti a livello della decidua e delle membrane fetali, inibendo così l'incremento di calcio intracellulare indotto dall'ossitocina, nonché la contrattilità uterina attraverso un meccanismo dose-dipendente. Inoltre, agisce anche mediante un meccanismo di competizione "indiretto", inibendo il rilascio di prostaglandine dalla decidua e dalle membrane fetali mediato dall'ossitocina. Tali prostaglandine in condizioni fisiologiche oltre ad aumentare la contrattilità uterina aumentano anche la concentrazione di recettori dell'ossitocina sulle cellule miometriali (9). Sembra infatti che il parto pretermine sia dovuto ad un precoce aumento dei re-

ettori per l'ossitocina nel miometrio come avviene nel parto a termine.

L'Atosiban grazie alla sua alta specificità ed affinità per i recettori dell'ossitocina assicura un'azione tocolitica specifica e selettiva, garantendo in termini clinici l'arresto del travaglio attivo con una durata efficace tocolitica ed una riduzione sensibile degli effetti adrenergici a livello sistemico. La migliore tollerabilità del farmaco è confermata da recenti studi clinici nei quali la terapia con Atosiban è stata confrontata con placebo (10, 11) o con ritodrina (12). Tali risultati sono stati confermati anche da un nostro recentissimo studio in cui però abbiamo confrontato l'efficacia dell'Atosiban e della Ritodrina in associazione al cerchiaggio cervicale per la prevenzione del parto pretermine nelle gravidanze a rischio ottenute da ICSI (9). Il prolungamento della gravidanza dopo trattamento consente, quanto meno, di attuare le misure minime di trattamento (profilassi di Liggins) mirate alla prevenzione dei danni legati alla prematurità, nonché, in un'ottica di bilancio costo beneficio, di ridurre i costi per i giorni di degenza delle madri, quelli per l'assistenza dei neonati in NICU (Neonatal Intensive Care Unit) ed i gravi disagi psicologici dei familiari.

Rozenberg et al nel 2004 indica come non predittiva di parto pretermine la valutazione ecografica della lunghezza cervicale dopo trattamento tocolitico, data la variabilità della tecnica (13).

I risultati del nostro studio suggeriscono che nelle pazienti a rischio di parto pretermine il controllo ecografico post-trattamento con Atosiban conferma l'efficacia del farmaco nel prevenire il parto pretermine, evidenziando una differenza statisticamente significativa tra il pre e post trattamento. Sicuramente il nostro studio è limitato dal numero dei casi esaminati e dalla mancanza di un consensus in letteratura sull'applicazione di tale metodo, pertanto data l'incidenza di tale patologia sarebbero necessari studi randomizzati e di tipo multicentrico per poter valicare il metodo, con una numerosità di casi tale da rendere le conclusioni più oggettive. Tuttavia, nella nostra esperienza il fattore cervicale sembra rivestire un ruolo importante nella genesi del parto pretermine in alcune popolazioni a rischio, in particolare nelle gravidanze ottenute con alte tecnologie di riproduzione assistita, anche singole (14) (9).

In tali condizioni la cervicometria ecografica potrebbe svolgere un ruolo di screening tra la 22° e la 24° settimana di parto pretermine in particolare su popolazioni a rischio.

**Tabella 1** Valutazione statistica dei dati con test t di Student

Dataset	1	2
Numerosità campione	45	45
Media	22	38
Dev. standard	2,9835	1,9457
t	25,4381	
gradi di libertà	26	
P (livello di significatività)	0,0000	

### **3.4 ISOSSISUPRINA CLORIDRATO VS ATOSIBAN IN PAZIENTI AFFETTE DA pPROM. NOSTRA ESPERIENZA.**

L'isossisuprina cloridrato è tra i farmaci più comunemente utilizzati per il trattamento della minaccia di parto pretermine. Tale farmaco presenta un'azione tocolitica non selettiva sull'utero che interessa tutti gli strati del miometrio indipendentemente dallo stato ormonale. La scarsa selettività recettoriale dell'isossisuprina è responsabile di una serie di effetti collaterali, soprattutto cardiovascolari, che spesso ne limitano l'uso. Allo scopo di ovviare a questa scarsa tollerabilità, un antagonista recettoriale dell'ossitocina, l'atosiban, è diventato il presidio elettivo grazie alla sua alta specificità recettoriale uterina, sembra essere in grado di espletare la propria attività tocolitica senza provocare l'insorgenza di effetti collaterali avversi.

In questo studio abbiamo voluto confrontare l'efficacia tocolitica, l'outcome neonatale e la tollerabilità di queste due categorie di farmaci, in pazienti con diagnosi di minaccia di parto pretermine associata a pPROM di età gestazionale compresa tra 26 e 30 settimane di gestazione.

## **ISOSSISUPRINA CLORIDRATO VS ATOSIBAN IN PAZIENTI AFFETTE DA pPROM. NOSTRA ESPERIENZA**

*Antonietta Merenda, Antonella Stile, Giovanni Nazzaro, Giuseppe De Placido, Luigia D'Errico, Mariavittoria Locci.*

*Atti dell'80° Congresso SIGO, 2006*

### **INTRODUZIONE**

Il parto pretermine, che si associa in circa 1/3 dei casi alla rottura delle membrane (pPROM) costituisce ancora oggi nei paesi industrializzati la principale causa di morbidità e mortalità perinatale (1, 2). Prima della 37° settimana di gestazione la rottura delle membrane espone la madre ed il feto ad una serie di complicanze, a breve e a lungo termine, direttamente correlate alla prematurità e all'aumento del rischio infettivo. Il rischio delle complicanze, e quindi di mortalità perinatale, varia in maniera significativa con l'età gestazionale, riducendosi dal 43.5% a 25-28 settimane, all'11.3% a 29-32 W, al 4.5% a 33-34 W (3). L'intervallo fra PROM ed inizio del travaglio (periodo di latenza) è molto variabile: da poche ore a pochi giorni. La durata del periodo di latenza è inversamente proporzionale all'età gestazionale. Quando l'intervallo si prolunga oltre le 24-48 ore (rottura prolungata delle membrane), il rischio maggiore per il feto è l'infezione endoamniotica. Se la rottura delle membrane interviene in un'epoca gestazionale >34 W, quando il feto raggiunge un sufficiente grado di maturità polmonare, è spesso indicato accelerare l'espletamento del parto. Se la rottura avviene prima della 34° W di gestazione è indicato ritardare l'insorgenza delle contrazioni uterine mediante riposo assoluto a letto, terapia tocolitica ed antibiotica (4).

L'isossisuprina cloridrato è tra i farmaci più comunemente utilizzati per il trattamento della minaccia di parto pretermine. Tale farmaco presenta un'azione tocolitica non selettiva sull'utero che interessa tutti gli strati del miometrio indipendentemente dallo stato ormonale. La scarsa selettività recettoriale dell'isossisuprina è responsabile di una serie di effetti collaterali, soprattutto cardiovascolari, che spesso ne limitano l'uso. Allo scopo di ovviare a questa scarsa tollerabilità, un antagonista recettoriale dell'ossitocina, l'atosiban, è diventato il presidio elettivo grazie alla sua alta specificità recettoriale uterina, sembra essere in grado di espletare la propria attività tocolitica senza provocare l'insorgenza di effetti collaterali avversi (5).

In questo studio abbiamo voluto confrontare l'efficacia tocolitica, l'outcome neonatale e la tollerabilità di queste due categorie di farmaci, in pazienti con diagnosi di minaccia di parto pretermine associata a pPROM di età gestazionale compresa tra 26 e 30 W di gestazione.

### **MATERIALI E METODI**

Tra gennaio 2004 e gennaio 2006 sono state valutate 20 pazienti afferite al reparto di gravidanza a rischio dell'area funzionale di Chirurgia Ostetrica e Ginecologica, Laparotomia ed Endoscopica, Centro di Sterilità di coppia, dell'Università di Napoli Federico II, con diagnosi di ammissione di minaccia di parto pretermine associata a PROM.

Tutte le pazienti presentavano attività contrattile (più di 3 contrazioni in 30 minuti di registrazione cardiotocografica) e/o modifiche della cervice uterina rilevate ecograficamente (funneling, inteso come dilatazione dell'orifizio uterino interno ad imbuto, lunghezza cervicale < 25 mm all'ecografia transvaginale) omogenee per età materna, stile di vita, parità (nullipare) ed età gestazionale (compresa tra 26 e 30 W).

10 pazienti (gruppo A) sono state sottoposte a terapia con isossisuprina cloridrato (3 fl da 10 mg in 500 cc di soluzione fisiologica) e 10 pazienti (gruppo B) sono state sottoposte a trattamento con atosiban (tractocile 1 bolo ev, fiala azzura, 8 fiale viola ad infusione continua), come da schema posologico standard.

In associazione alla terapia tocolitica le pazienti di entrambi i gruppi sono state sottoposte a profilassi antibiotica, per la prevenzione di complicanze infettive, e a profilassi di Liggins, per l'induzione della maturità polmonare fetale.

Per ciascuna paziente sono stati considerati l'effetto tocolitico (assenza di contrazioni al tocogramma), il tempo di prosecuzione della gravidanza, l'outcome neonatale e la tollerabilità materno-fetale al trattamento.

Il  $\chi^2$  e il t test per dati appaiati sono stati utilizzati per confrontare i dati nei due gruppi.

#### RISULTATI

L'effetto tocolitico è stato ottenuto entro 48 h dall'inizio del trattamento in tutte le pazienti del gruppo B. Il 50% delle pazienti del gruppo A ha necessitato di una prosecuzione della terapia per un periodo superiore ad una settimana.

In entrambi i gruppi il parto è stato ritardato mediamente di almeno 4 W dall'inizio dei sintomi.

La lunghezza cervicale ed il funneling, presenti nel 50% delle pz, di entrambi i gruppi, è rimasta invariata nel gruppo A ed ha presentato remissione a valori nei limiti della norma nel 40% delle pz del gruppo B prese in esame. (Tab. I)

Gli effetti collaterali e l'outcome neonatale dei due gruppi considerati sono stati riassunti e confrontati nelle Tab. II e III.

La tollerabilità del trattamento è stata maggiore nel gruppo B, nel quale è stata riscontrata una riduzione statisticamente significativa della tachicardia materna e fetale derivante dal trattamento (Tab II).

Nel 30% delle pazienti del gruppo A è stato necessario interrompere il trattamento per la persistenza degli effetti collaterali materni e fetali.

Nessuna paziente del gruppo B ha necessitato di sospensione del trattamento.

**Tabella. I Cervicometria post trattamento**

	Gruppo A	Gruppo B	p
Cervicometria	27.5 (18-37 mm)	33.6 (28-38 mm)	< 0.05

**Tabella. II Effetti collaterali**

	Gruppo A	Gruppo B	p
Nausea e vomito	20%	20%	n.s.
Tachicardia materna	60%	-	< 0,05
Tachicardia fetale	50%	-	< 0,05
Cefalea	20%	10%	n.s.
Tremori	10%	-	n.s.
Ipotensione	10%	-	n.s.
Cardiopalmi	10%	-	n.s.
Sospensione del trattamento	30%	-	n.s.

**Tabella. III Outcome neonatale**

	Gruppo A	Gruppo B	p
Eta gestazionale alla nascita	31,4 W (27-35 W)	34,6 W (29-36 W)	n.s.
Peso alla nascita	1800 gr (1000-2600 gr)	2050 gr (1250-3000 gr)	n.s.
Terapia intensiva neonatale	30% (3 pz)	20% (2 pz)	n.s.

### CONCLUSIONI

In un precedente studio sulla prevenzione del parto pretermine nelle gravidanze ottenute da ICSI, abbiamo messo a confronto i diversi meccanismi d'azione dei beta-agonisti e dell' atosiban, evidenziando il ruolo di rilievo che in tali processi rivestono le prostaglandine (PGE, PGF) e sottolineando l'alta specificità di legame degli antagonisti dell'ossitocina rispetto ai beta-agonisti. La rottura pretermine e prematura delle membrane amniotiche causa un prematuro rilascio di prostaglandine da parte dell'utero e delle membrane amniotiche. (6)

Sulla scorta del meccanismo diretto che blocca i recettori ossitocinici e del meccanismo indiretto che inibisce il rilascio delle prostaglandine da parte della decidua e delle membrane fetali, responsabili, a loro volta, delle modifiche a livello cervicale, l' atosiban sembra essere il farmaco più indicato nel trattamento della minaccia di parto pretermine (6).

I due farmaci messi a confronto con il nostro studio sono risultati ugualmente efficaci nel ridurre l'attività contrattile, nel prevenire l'instaurarsi di un travaglio di parto a breve termine.

Per quanto concerne l'efficacia a lungo termine, il gruppo trattato con atosiban ha mostrato un'epoca gestazionale al parto superiore, seppure questo dato non risulti statisticamente significativo, probabilmente a causa dell'esiguo numero di pazienti trattate.

Tuttavia i nostri dati, seppur limitati dall'esiguo numero dei casi trattati, hanno evidenziato una sensibile diminuzione degli effetti avversi cardiovascolari materno-fetali nelle pazienti trattate con atosiban.

Tale evidenza è da mettere in relazione con la scarsa specificità d'organo dell'isossisuprina cloridrato che, somministrata per via parenterale, già alle dosi terapeutiche, causa una serie di effetti collaterali materno-fetali che spesso ne limitano l'uso prolungato o in ogni caso l'uso per periodi sufficienti al raggiungimento della maturità polmonare fetale (7).

L' atosiban, per la sua alta specificità ed affinità di legame con l'ossitocina, ha mostrato di possedere un'azione tocolitica selettiva. Questo suo meccanismo d'azione si traduce nella pratica clinica in una duratura efficacia tocolitica ed in una riduzione statisticamente significativa degli effetti adrenergici sistemici associati ad una elevata tollerabilità (8, 9).

Di notevole impatto nella gestione clinica delle pazienti è stata inoltre la necessità di sospendere il trattamento tocolitico, dovuta all'ingravescenza degli effetti collaterali, in alcune pazienti sottoposte a trattamento con isossisuprina.

Il raggiungimento, infine, di un effetto tocolitico efficace in breve tempo in gravidanze complicate da pPROM, caratterizzate spesso da un periodo di latenza ridotto, e la necessità di migliorare la compliance della paziente, rende necessario un corretto management della gravidanza.

Il nostro studio seppur numericamente ridotto sottolinea, ancora una volta, l'importanza dell' atosiban nella prevenzione del parto pretermine anche in quei casi complicati da patologie associate come la pPROM.

## Bibliografia

1) WHO

*Classification of disease and related Health Problems (10<sup>th</sup> revision).*  
Volume 2, Geneva, WHO 1993

2) CUNNINGHAM F.G., MACDONALD P.C., et al.

*Preterm and postterm pregnancy and fetal growth retardation.*  
In Williams, editors. *Obstetrics*, 19<sup>th</sup> edition. Connecticut USA, 1993: 853-883

3) ALEXANDER J.M., COX S.M.

*Clinical course of preterm premature rupture of membranes. Sem Perinatol* 1996; 20 (5): 369-374

4) ERNEST J.M.

*Neonatal consequences of preterm PROM. Clin Obstet Gynecol* 1998; 41 (4): 827-831

5) HALL M.H., DANIELIAN P., LAMONT R.F.

*The importance of preterm birth . in Elder MG, Lamont RF, Romero R, editors. Preterm labor.*  
New York: Churchill Livingstone. 1997: 1-28

6) LOCCI M. et al.

*Atosiban vs ritodrine used prophylactically with cerclage in ICSI pregnancies to prevent pre-term birth in women identified as being at high risk on the basis of transvaginal ultrasound scan.*  
*Journal of Obstetrics and Gynaecology*; July 2006; 26 (5): 396-401

7) KTZ V.L., FARMER R.M.

*Controversies in tocolytic therapy. Clin. Obstet. Gynecol.* 42 (4): 802-819, 1999.

8) GOODWIN T.M., VALENZUELA G., et al.

*Treatment of preterm labor with the oxytocin antagonist atosiban. Am J Perinatol* 1996;13:143-146

9) THE ATOSIBAN STUDY GROUP. GOODWIN T.M., VALENZUELA G., et al.

*Dose ranging study of the oxytocin antagonist atosiban in the treatment of preterm labor.*  
*Obstet Gynecol* 1996; 88:331-336

### **3.5 TOCOLITICI DI ULTIMA GENERAZIONE (ATOSIBAN) NELLE GRAVIDANZE BIGEMINE. NOSTRA ESPERIENZA**

In un precedente studio abbiamo confrontato l'efficacia dell'atosiban e della ritodrina in associazione al cerchiaggio cervicale per la prevenzione del parto pretermine nelle gravidanze a rischio ottenute da ICSI. I risultati hanno confermato oltre che una migliore tollerabilità anche una migliore efficacia dell'atosiban in termini di epoca gestazionale al parto ed outcome neonatale rispetto alla ritodrina. L' atosiban rappresenta quindi il farmaco di prima scelta nel trattamento della minaccia di parto pretermine. Tale dato appare fondamentale nelle gravidanze gemellari in cui i beta agonisti sono controindicati in quanto incrementando i livelli di renina ed aldosterone in una gravidanza già associata ad un maggiore volume plasmatico materno, ad iperaldosteronismo secondario, aumenterebbero ulteriormente il rischio di edema polmonare. Tuttavia studi condotti sulle gravidanze gemellari con l'utilizzo di ritodrina versus atosiban non riconoscono un significativo innalzamento dell'epoca al parto tra i due gruppi.

Il nostro studio si basa sulla determinazione del rischio di parto pretermine nelle gravidanze gemellari, e sulla valutazione in relazione all'epoca gestazionale al parto dell'efficacia della ripetizione del trattamento con atosiban.



## **TOCOLITICI DI ULTIMA GENERAZIONE (ATOSIBAN) NELLE GRAVIDANZE BIGEMINE. NOSTRA ESPERIENZA.**

*Poppiti R., Nazzaro G., Miranda M., D'Errico L., Palmieri T., Merenda A., De Placido G., Locci M.*

Atti del VI Training of Obstetric and Gynecology, 2007

### **Introduzione**

Il parto pretermine rappresenta una rilevante patologia ostetrica; complica il 5-10% delle gravidanze ed è la principale causa di mortalità e morbidità neonatale (1,2). La sopravvivenza dei nati pretermine dipende dall'epoca gestazionale al parto; è inferiore al 5% prima della 23° settimana; raggiunge il 95% dopo la 32° settimana. La morbidità decresce dal 60% per i nati prima della 23° settimana a meno del 5% dopo la 32° settimana (3,4). Nelle gravidanze singole la percentuale di parto prima della 32° settimana è dell'1-2% ; diventa del 5-10% nelle gravidanze gemellari (5).

L'incidenza delle gravidanze plurime è aumentata negli ultimi 25 anni, in parte per l'incrementato uso di farmaci induttori dell'ovulazione e all'impiego di tecniche di fecondazione in vitro in parte per il progressivo aumento della percentuale di gravide di età superiore ai 35 anni (6).

Dai dati esposti si evince come il parto pretermine sia un fenomeno di vaste proporzioni e come sia necessaria la sua prevenzione.

Nonostante i notevoli progressi degli ultimi decenni non si è avuta una riduzione sensibile dell'incidenza a causa dell'ampia disomogeneità dei comportamenti preventivi, dei criteri diagnostici e dei protocolli terapeutici.

Vari studi in letteratura hanno accertato che esiste una relazione lineare tra lunghezza cervicale e rischio di parto pretermine; la valutazione mediante ecografia transvaginale della lunghezza della cervice uterina è in grado di identificare con buona sensibilità le pazienti a rischio di parto pretermine (7,8,9).

L'epoca gestazionale per la valutazione del dato e il cutt-off per la gravidanza gemellare è diverso a seconda dei vari studi effettuati (10-15).

L'approccio terapeutico alla prevenzione e alla cura del parto pretermine si è basato sull'impiego di diversi agenti tocolitici. Dagli anni '60 si è sviluppato un notevole interesse per l'uso dei beta agonisti dotati di elevata efficacia, ma scarsa selettività, agendo anche su altri organi ed apparati. Le più recenti evidenze scientifiche hanno individuato un nuovo agente tocolitico: l'Atosiban che grazie alla sua peculiare e specifica azione di antagonismo sui recettori dell'ossitocina garantisce un'efficacia comparabile ai beta mimetici, ma con una maggiore tollerabilità (16,17,18,19). In un precedente studio abbiamo confrontato l'efficacia dell'Atosiban e della Ritodrina in associazione al cerchiaggio cervicale per la prevenzione del parto pretermine nelle gravidanze a rischio ottenute da ICSI. I risultati hanno confermato oltre che una migliore tollerabilità anche una migliore efficacia dell'Atosiban in termini di epoca gestazionale al parto ed outcome neonatale rispetto alla Ritodrina (20). L' Atosiban rappresenta quindi il farmaco di prima scelta nel trattamento della minaccia di parto pretermine. Tale dato appare fondamentale nelle gravidanze gemellari in cui i beta agonisti sono controindicati in quanto incrementando i livelli di renina ed aldosterone in una gravidanza già associata ad un maggiore volume plasmatico materno, ad iperaldosteronismo secondario, aumenterebbero ulteriormente il rischio di edema polmonare. Tuttavia studi condotti sulle gravidanze gemellari con l'utilizzo di ritodrina versus atosiban non riconoscono un significativo innalzamento dell'epoca al parto tra i due gruppi (19,21).

Il nostro studio si basa sulla determinazione del rischio di parto pretermine nelle gravidanze gemellari, e sulla valutazione in relazione all'epoca gestazionale al parto dell'efficacia della ripetizione del trattamento con Atosiban.

## Materiali e metodi

Abbiamo condotto uno studio presso il Reparto di Gravidanza a Rischio dell'Area funzionale di Chirurgia Ostetrica e Ginecologica, Laparotomica ed Endoscopica, Centro di Sterilità e Infertilità di coppia dell'Università "Federico II" di Napoli dal 2002 al 2005 su 28 pazienti con gravidanza gemellare affette da minaccia di parto pretermine, omogenee per età e parità in assenza di complicazioni materno-fetali.

Il rischio di parto pretermine è stato definito tra 20 e 24 settimane attraverso la valutazione con ecografia transvaginale della lunghezza cervicale e della presenza di funneling (svasamento ad imbuto dell'OUI). Per una buona riproducibilità della tecnica dovevano essere soddisfatti i seguenti criteri: 1) OUI piatto o triangolare; 2) canale cervicale interamente visibile; 3) OUE simmetrico; 4) labbro anteriore e posteriore della cervice dello stesso spessore rispetto al canale cervicale (Fig. 1).

Una lunghezza cervicale < di 25mm con o senza funneling è stata l'indicazione al ricovero per minaccia di parto pretermine. In tale regime le pazienti sono state sottoposte a trattamento con Atosiban secondo il seguente protocollo: bolo da 6,75mg del farmaco somministrato in un minuto attraverso iniezione endovenosa seguito da un'infusione di 7,5mg x 2 in 500cc di soluzione fisiologica a 120ml/min per 3 ore e nelle successive 24h di mantenimento a 40ml/min.

In 14 pazienti (GRUPPO A) è stato effettuato un singolo trattamento, nelle rimanenti 14 (GRUPPO B) il trattamento è stato ripetuto a distanza di due settimane secondo lo stesso schema. Tutte le pazienti sono state sottoposte a profilassi di Liggins tra la 24° e la 34° settimana per la prevenzione della sindrome da distress respiratorio, e a tampone vaginale con terapia antibiotica mirata in caso di risultato positivo per infezione.

E' stata valutata l'epoca gestazionale al parto; inferiore a 34 settimane, tra 34 e 36 settimane e superiore a 36 settimane.

La valutazione dei dati è stata effettuata col test t di Student.

## Risultati

Delle 14 pazienti del Gruppo A 8 avevano espletato il parto prima della 34° settimana; 3 in un'epoca compresa tra la 34° e la 36° settimana e 3 dopo la 36° settimana. Delle 14 pazienti del Gruppo B 3 avevano espletato il parto prima della 34° settimana; 4 tra la 34° e la 36° settimana e 7 dopo la 36° settimana.

L'epoca gestazionale al parto nelle pazienti del gruppo B (valore medio: 35 settimane e 3 giorni) era maggiore rispetto alle pazienti del Gruppo A (valore medio: 32 settimane e 8 giorni); tale dato appariva statisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) (Tab.1).

## Discussione

I risultati del nostro studio dimostrano come la ripetizione del trattamento con Atosiban nella prevenzione del parto pretermine nelle gravidanze gemellari a rischio prolunghi la durata della gravidanza aumentando la sopravvivenza e migliorando l'outcome neonatale.

La valutazione del rischio di parto pretermine in queste gravidanze è stata alla base di molteplici studi. Goldenberg nel 1996 ha condotto uno studio su 147 gravidanze gemellari con valutazione ecografica della lunghezza cervicale tra 24 e 28 settimane evidenziando un aumentato rischio di parto prima delle 32 settimane per una lunghezza cervicale < di 25mm (10). Imseis nel 1997 ha definito come gravidanze bigemine a basso rischio di parto prima della 34° settimana quelle in cui le pazienti presentavano tra 24 e 26 settimane una lunghezza cervicale > di 35mm (11). Guzman nel 2000 indica come predittiva di parto pretermine nelle gravidanze gemellari una lunghezza cervicale < di 2cm valutata tra 15 e 28 settimane (12). Gibson nel 2004 conferma il valore della valutazione mediante ecografia transvaginale della lunghezza cervicale nella individuazione delle gravidanze gemellari a rischio; una lunghezza cervicale < di 25mm a 18 settimane e < di 22mm a 24 settimane sono indicativi per parto prima delle 35 settimane (13). Sperling nel 2005 conferma i dati di Souka

del 1999 suggerendo di effettuare la valutazione della lunghezza cervicale a 23 settimane e pone come cutt-off 25mm (14,15).

E' noto come l'eziopatogenesi del parto pretermine sia multifattoriale con attivazione finale degli stessi meccanismi che conducono al parto a termine.

Nella gravidanza gemellare la maggiore incidenza di parto pre-termine ci suggerisce come in questi casi potrebbero essere coinvolti dei fattori aggiuntivi; uno di questi è sicuramente la sovradistensione uterina che potrebbe essere causa di una prematura sensibilità uterina all'ossitocina (22).

L'ossitocina svolge un ruolo importante nell'iniziazione sia del parto pretermine che a termine. E' secreto dalla neuroipofisi in maniera pulsatile, ma anche dalla placenta, dalle ovaie e dalle membrane fetali (23).

Stimola sia la frequenza che la forza dell'attività contrattile uterina legandosi ai recettori di membrana presenti sulla superficie delle cellule miometriali in cui determina un incremento della concentrazione di calcio intracellulare; inoltre induce il rilascio di prostaglandine da parte della decidua e delle membrane fetali; le prostaglandine oltre ad aumentare la contrattilità uterina aumentano la concentrazione di recettori dell'ossitocina sulle cellule miometriali (24). Sembrerebbe che il parto pretermine sia dovuto ad un precoce aumento dei recettori per l'ossitocina nel miometrio come avviene nel parto a termine.

L'Atosiban è un antagonista competitivo dell'ossitocina; agisce a livello dei recettori del miometrio, della decidua e delle membrane fetali attraverso un'inibizione dose dipendente della contrattilità uterina. L'affinità del'Atosiban per i recettori dell'ossitocina è dieci volte minore rispetto all'ossitocina endogena; per cui le dosi terapeutiche devono essere sufficienti a determinare una concentrazione plasmatica del farmaco dieci volte maggiore rispetto all'ossitocina endogena (25).

La nostra esperienza, seppur limitata, segnala la necessità di effettuare un secondo trattamento con Atosiban nelle gravidanze gemellari per aumentare l'epoca gestazionale al parto, per cui crediamo che in queste pazienti vi possa essere un maggiore rilascio di ossitocina endogena tale da superare l'azione antagonista del farmaco o vi sia una maggiore concentrazione di recettori per l'ossitocina per cui il farmaco non riesce a impedire l'azione dell'ossitocina endogena se somministrato alla dose standard.

Il dato sembrerebbe suggerire una rivalutazione del dosaggio del farmaco o dello schema terapeutico in caso di gravidanza gemellare al fine di poter ottenere con un solo trattamento gli stessi risultati determinati dalla ripetizione dello stesso, con riduzione della spesa sanitaria e migliore compliance per la paziente.

**Tabella 1** Valutazione statistica dei dati con test t di Student

Dataset	1	2
Numerosità campione	14	14
<b>Media</b>	<b>32,8571</b>	<b>35,3571</b>
Dev. standard	2,9835	1,9457
<b>t</b>	<b>2,6262</b>	
<b>gradi di libertà</b>	<b>26</b>	
<b>P (livello di significatività)</b>	<b>0,0143</b>	

**Figura 1** Valutazione con ecografia transvaginale della cervice uterina



## Bibliografia

- 1) M.H., Danielian P. and Lamont R.F.,(1997) The importance of preterm birth. *Preterm Labour*, edited by Elder M.G., Lamont R.F. and Romero R., 1-28. New York, Churchill Livingstone.
- 2) Copper RL, Goldenberg RL, Creasy RK, DuBard MB, Davies RO, Entman SS, et al. A multicenter study of preterm birth weight and gestational age-specific neonatal mortality. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 78-84.
- 3) Guyer B, Martin JA, MacDorman MF, Anderson RN, Strobino DM. Annual summary of vital statistics-1996. *Pediatrics* 1997; 100: 905-18.
- 4) Tin W, Wariyar U, Hey E. Changing prognosis for babies of less than 28 weeks' gestation in the north of England between 1983 and 1994. Northern Neonatal Network. *BMJ* 1997;314: 107-11.
- 5) Sebire NJ, Snijders RJM, Hughes K, Supulveda W, Nicolaides KH. The Hidden mortality of monochorionic twin pregnancies. *BJOG* 1997;104:1203-7.
- 6) Jewell SE, Yip R: Increasing trends in pleural births in the United States. *Obstet Gynecol* 1995;85:229-232.
- 7) Hartmann K, Thorp JM, Mc Donald TL, Savitz DA, Granados JL. Cervical dimensions and risk of preterm birth: a prospective cohort study. *Obstet Gynecol* 1999;93:504-509.
- 8) TO MS, Skentou C, Liao AW, Cacho A, Nicolaides KH. Cervical length and funnelling at 23 weeks of gestation in the prediction of spontaneous early preterm delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 18:200-203.
- 9) TO MS, Skentou C, Royston P, Yu CKH, Nicolaides KH. Prediction of patient-specific risk of early preterm delivery using maternal history and sonographic measurement of cervical length: a population-based prospective study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006;27:362-367.
- 10) Goldenberg RL, Iams JD, Miodovnik M, Van Dorsten JP, Thunnau G, Bottoms S, et al. The preterm prediction study: risk factors in twin gestation. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1047-53.
- 11) Imseis HM, Albert TA, Iams JD,. Identifying twin gestations at low risk for preterm birth with transvaginal ultrasonographic cervical measurement at 24 to 26 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:1149-1155.
- 12) Guzman ER, Walters C, O'Reilly-Green C, Kinzler WL, et al. Use of cervical ultrasonography in the prediction of spontaneous preterm birth in twin gestations. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1103-1107.
- 13) Gibson JL, Macara LM, Owen P, Young D, Macauley J and Mackenzie F. Prediction of preterm delivery in twin pregnancy: a prospective, observational study of cervical length and fetal fibronectin testing. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004;23:561-566.
- 14) Sperling L, Kiil C, Larsen LU, Qvist I, Bach D, et al. How identify twin at low risk of spontaneous preterm delivery.
- 15) Souka AP, Heath V, Flint S, Sevastopoulou I, Nicolaides KH. Cervical Length at 23 weeks' gestation. *Obstet Gynecol* 1999;94:450-454.
- 16) Goodwin TM, Valenzuela G, Silver H, Hayashi R, Creasy GW; Lane R,. Treatment of preterm labor with the oxytocin antagonist atosiban. *Am J Perinatol* 1996; 13:143-146.
- 17) The atosiban study group, Goodwin TM, Valenzuela G, Silver H, Creasy G. Dose ranging study of the oxytocin antagonist atosiban in the treatment of preterm labor. *Obstet Gynecol* 1996;88:331-336.
- 18) Romero R, Sibai BM, Sanchez-Ramos L, Valenzuela G, Veille JC, Tabor B, et al. A double-blind placebo-controlled trial of an oxytocin receptor antagonist (Antocin) in the treatment of preterm labour. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:1173-1183.

- 19) Moutquiu RF, Sherman D, Cohen H, Mohide PT, et al. Double-blind randomized controlled trial of atosiban and ritodrine in the treatment of preterm labor: a multicenter effectiveness and safety study. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182 (2):1191-119.
- 20) Locci M, Nazzaro G, Merenda A, Pisaturo ML, Laviscio P, Poppiti R, Miranda M, Stile A, De Placido G. Atosiban vs ritodrine used prophylactically with cerclage in ICSI pregnancies to prevent pre-term birth in women identified as being at high risk on the basis of transvaginal ultrasound scan. *J of Obstet Gynecol*, 2006;26(5):396-401.
- 21) The World Atosiban versus Beta-agonists Study Group: Effectiveness and safety of the oxytocin antagonist atosiban versus beta adrenergic agonist in the treatment of preterm labour. *Br J Obstet Gynaecol* 2001;108:133-142.
- 22) Rouse DJ, Skopec GS, Zlatnik FJ. Fundal Height as a predictor of preterm twin delivery. *Obstet Gynecol* 1993;81:211-214.
- 23) Chibbar R, Miller FD, Mitchell BF. Synthesis of oxytocin in amnion, chorion, and deciduas may influence timing of human parturition. *J Clin Invest* 1993;91:185-92.
- 24) Melin P. Oxytocin antagonists in preterm labour and delivery. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1993;7:577-600.
- 25) Elder MG, DScMD, FRCS, FRCOG. New perspectives for the effective treatment of preterm labour- an international consensus. *Research and clinical forums* Vol 16 No 3.

## 4.1 DISCUSSIONE

Circa il 60% di tutti i nati prematuri nei paesi industrializzati è rappresentato da parti pretermine spontanei. Il miglioramento delle condizioni sociali nonché il miglioramento delle terapie mediche ha aumentato il tasso di sopravvivenza nei nati pretermine. L'incidenza del parto pretermine non è tuttavia cambiata negli ultimi trenta anni in seguito all'aumento del numero di gravidanze multiple ottenute da IVF, dei parti pretermine indotti su indicazione ostetrica e la miglioramento dell'assistenza neonatale.

Il parto pretermine rimane oggi la maggiore causa di mortalità e handicaps a lungo termine che includono handicap neurologici, quali paralisi cerebrali, cecità, sordità ed disordini non neurologici quali displasia broncopolmonare, retinopatia. Il tasso di mortalità perinatale è inversamente proporzionale all'epoca gestazionale alla nascita.

Posticipare il parto riduce la morbidità a lungo termine facilitando la maturazione di organi e apparati, e permette il trasferimento del feto in utero presso centri in cui sia presente una unità di terapia intensiva neonatale.

L'identificazione precoce di donne a rischio di parto pretermine rappresenta uno degli obiettivi più importanti nell'ambito dell'assistenza prenatale. Gli *indicatori primari* per l'insorgenza di parto prematuro sono costituiti da fattori individuali, socio-economici, lavorativi, legati alla storia ostetrica e ginecologica della donna. Inoltre la valutazione ecografia della cervice uterina e il dosaggio della FFN nelle secrezioni vaginali sono emersi come potenziali *indicatori secondari* nella definizione del profilo di rischio. Tuttavia i dati relativi a specificità e sensibilità di questi fattori non sono risultati abbastanza significativi da poterli utilizzare nello screening della popolazione a basso rischio. Le strategie di prevenzione mirano ad individuare la popolazione ad alto rischio di parto pretermine, attraverso l'uso combinato di markers ecografici (cervicometria transvaginale), biochimici che includono il dosaggio della FNN, la valutazione degli indici di infiammazione (PCR) nello screening delle infezioni vaginali.

Tuttavia poiché la maggior parte delle donne che partoriscono prematuramente non presentano fattori di rischio e la maggior parte dei parti prematuri avvengono in donne a basso rischio, è di cruciale importanza che vengano identificati dei parametri che permettano di porre una diagnosi precoce di parto pretermine.

Lo studio del meccanismo di contrazione/decontrazione uterina è alla base delle ricerche di nuovi targets farmacologici miometriali che inducono tocolisi in modo sicuro e selettivo. Il ruolo dell'cAMP come mediatore della regolazione della funzione miometriale è noto ma il suo meccanismo d'azione non è pienamente compreso. L'aumento dei livelli intracellulari di cAMP

promuove il rilassamento del miometrio agendo su numerosi targets intracellulari tra cui i canali del calcio e del potassio, la chinasi della catena leggera della miosina (MYKK).

Una completa comprensione dei pathways di regolazione del cAMP e l'individuazione di targets specifici potrebbe favorire lo sviluppo di nuovi farmaci tocolitici selettivi.

Numerosi studi epidemiologici hanno chiaramente dimostrato che il principale fattore di rischio di parto pretermine comunque è rappresentato da una precedente storia di parto pretermine.

Questo dato suggerisce che una serie di polimorfismi genici di alcune proteine G, possono essere collegati all'esito del parto, quali quello del recettore per l'ossitocina (OXTR), degli ormoni adrenocorticotropi, del recettore del trombossano A<sub>2</sub> (TBXA), dell' endotelina 1, del TNF, del recettore IL 1.

La multifattorialità etiologica del parto pretermine ne rende difficile la diagnosi precoce e quindi il trattamento.

Romero nel 2006 in una review sottolinea l'importanza della prevenzione primaria del parto pretermine. Il termine High-dimensional biology (HDB) si riferisce allo studio simultaneo di varianti genetiche (variazioni del DNA), della trascrizione (variazione dell'mRNA), di peptidi, di proteine, di organi e tessuti nell'individuazione di malattie legate a tali alterazioni. La genomica è indirizzata allo studio della predisposizione genetica al parto pretermine; la proteomica all'individuazione di proteine nel liquido amniotico e nel sangue materno markers di parto pretermine (59). Queste tecniche hanno la capacità di misurare multipli markers in un campione biologico, la loro presenza può determinare cambiamenti biologici che possono anticipare di settimane o mesi le manifestazioni cliniche del disturbo. Queste nuove tecnologie potrebbero portare ad una rapida comprensione della fisiopatologia del parto pretermine spontaneo individuando nuove molecole target e markers biochimici diagnostici, e quindi la possibilità di attuare efficaci interventi nella prevenzione del parto pretermine.

La combinazione di geni, markers proteici e la storia familiare ostetrica potrebbero rappresentare il profilo di uno screening realmente sensibile e specifico di parto pretermine. La genomica trova un suo razionale non nello studio della espressione stessa del gene, ma nella ricerca delle proteine prodotte dal gene che possono essere causa di disturbi e determinare effetti a diversi livelli cellulari (60).

Buhimschi nel 2006 ha sottolineato come una delle principali cause di danno neonatale da prematurità sia legato alla risposta neonatale in caso di infiammazione/infezione. L'identificazione dell'infiammazione attraverso la presenza di biomarkers è altamente predittiva di infiammazione intrauterina (defensina 1 e 2, calgranulina C e calgranulina A) (61). La farmacogenomica rappresenta un'altra nuova disciplina in rapida evoluzione anche nel campo della prevenzione e del



trattamento del parto pretermine. Poiché il parto pretermine è il risultato finale dell'azione di diverse eziologie, non c'è motivo per il quale un unico trattamento dovrebbe essere ottimale per tutte le donne. Sulla base di questi dati con la farmacogenomica si potrebbe individuare un profilo paziente-specifico e sviluppare un trattamento paziente-specifico (62).

## 4. 2 BIBLIOGRAFIA

- 1) WHO. International statistical classification of diseases and related health problems. X revision Vol 2 Geneva: WHO: 1993.
- 2) Tucker JM , Goldenberg RL, Davies RO et al. Etiologies of preterm birth in an indigent population: is prevention a logical expectation?
- 3) Slattery MM, Morrison JJ. Preterm delivery. Lancet 2002;360:1489-97
- 4) Challis JRG. Mechanism of parturition and preterm labour. Obstet Gynecol Surv. 2000;55:650-660.
- 5) Elder MG. New perspectives for the effective treatment of preterm labour: an international consensus. Res Clin Formes 1994; 16(3): 189-199.
- 6) Goldemberg RL, Iams JD, Mercer BM, et al. The preterm prediction Study: the value of the new vs standard risk factors in predicting early and spontaneous preterm births. Am J Public Health 1998; 88:233-8
- 7) Kolas T, Nakling J, Salvesen KA. Smoking during pregnancy increases the risk of preterm births among parous women. Acta obstet Gynecol scand 2000 ; 79 :644-8
- 8) Saurel-Cubizolles MJ, Zeitlin J, Lelong N, et al. Working conditions and preterm birth : results from the European case-control survey. J Epidemiol Community health 2004; 58:395-401.
- 9) Mercer BM, Goldenberg RL, Das A, et al. The preterm prediction study: a clinical risk assessment system. Am J Obstet Gynecol 1996 Jun;174(6):1885-93.
- 10) Garfield RE, Hayashi RH: Appearance of gap junctions in the myometrium of women during labor. Am J Obstet Gynecol 1981, 140:254.
- 11) Husslein P. The importance of oxytocin and prostaglandins to the mechanism of labour in humans. : Wein Klin Wochenschr Siuppl. 1984;155:1-32.

- 12) Egater CH, Husslein P. Biochemistry of myometrial contractility. *Bailliers Clin Obstet Gynecol* 1992 Dec;6(4):755-69.
- 13) Wei Yuan and Andres Lopez B. Cyclic AMP signalling pathways in the regulation of uterine relaxation. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2007, 7 (Suppl I):S 10.
- 14) Honnebier WJ, Swaab DF. The influence of anencephaly upon intrauterine growth of fetus and placenta and upon gestational length. *J Obstet Gynaecol Br Commonw* 1973;80:1377.
- 15) Bokstrom H, Brannstrom M, Alexandersson M, et al. Leukocyte subpopulations in the human uterine cervical stroma at early and term pregnancy.
- 16) Keelan JA, Blumenstein M, Helliwell RJ, et al. Cytokines, prostaglandins and parturition -a review. *Placenta* 2003;24 Suppl A: S33-46.
- 17) Chwalisz K, Benson M, Scholz P, et al. Cervical ripening with cytokines interleukin 8, interleukin 1 beta and tumour necrosis factor alpha in guinea pigs. *Human Reprod.* 1994;9:2173-81.
- 18) Gomez R, Galasso M, Romero R e coll: Ultrasonographic examination of the uterine cervix is better than cervical digital examination as a predictor of the likelihood of premature delivery in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol*, 171: 956, 1994.
- 19) Berghella V, Tolosa JE, Kuhlman K, et al. Cervical ultrasonography compared with manual examination as a predictor of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 177 (1997)723.
- 20) Andersen HF, Nugent CE, Wanty SD, Hayashi RH. Prediction of risk for preterm delivery by ultrasonographic measurement of cervical length. *Am J Obstet Gynecol* 1990 Sep; 163 (3):859-67.
- 21) Murakawa H, Utumi T, Hasegawa , Tanaka K, Fuzimori R. Evaluation of threatened preterm delivery by transvaginal ultrasonographic measurement of cervical length. *Obstet Gynecol* 1993 Nov; 82(5): 829-32.
- 22) Iams JD, Johnson FF, Sonek J e coll: Cervical competence as a continuum: a study of ultrasonographic cervical length and obstetric performance. *Am J Obstet Gynecol*, 172: 1097, 1995.

- 23) Kushnir O, Vigil DA, Izquierdo L e coll: Vaginal ultrasonographic assessment of cervical length changes during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 162: 991, 1990.
- 24) Iams JD, Goldenberg RL, Meis PJ, et al. The lenght and the risk of spontaneous premature delivery. National Institute of Child Health and Human Development Maternal Fetal Medicine Unit Network. *N Engl J Med* 1996 Feb 29; 334(9):595-6.
- 25) Honest H, Bachmann LM, Coomarasamy A, et al. Accuracy of cervical transvaginal sonography in predicting preterm birth: a systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003 Sep; 22(3):305-22.
- 26) Yang J.H. Kuhlman K., Daly S., Berghella V.: Prediction of preterm birth by second trimester cervical sonography in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2000; 15: 288-291.
- 27) Guzman E.R., Walters C., O'Reilly-Green C., et al.: Use of cervical ultrasonography in prediction of spontaneous preterm birth in twin gestations. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2000; 183: 1103-1107.
- 28) Sperling L., Kiil C, Larsen U, et al. How to identify twins at low risk of spontaneous preterm delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;26:138-144.
- 29) Alfievic Z. Allen-Coward H, Molina F, et al. Targeted therapy for threatened preterm labour based on sonographic measuerement of the cervical lenght: a randomized trial. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007;29:47-50.
- 30) Goldenberg RL, Klebanoff M,Carey JC, et al.Vaginal fibronectin measurement from 8 to 22 week's gestation and subsequent spontaneous preterm birth. *Am J Gynecol* 2000; 183: 469-75.
- 31) Honest H, Bachmann LM, Gupta JK, et al. Accuracy of cervicovaginal fetal fibronectin test in predicting preterm birth: systemic review, *BMJ* 2002; 325:301-10.
- 32) Goepfert AR, Goldenberg RL, Mercer B, Iams J, et al. The preterm prediction study: quantitative fetal fibronectin values and the prediction of spontaneous preterm birth. *The National*

Institute of Child Health and Human Development Maternal Fetal Medicine Unit Network. Am J Obstet Gynecol 2000; 183:1480.

33) Leitch H, Kaider A. Fetal fibronectin how useful is its in the prediction of preterm birth? Br J Obstet Gynecol 2003;110:66-70.

34) Crowley P. Prophylactic corticosteroids for preterm birth. Cochrane Review, The Cochrane Library, Issue 1, 2003. Oxford: Update software.

35) Crowley PA. Antenatal corticosteroids therapy: a metanalysis of the randomized trials, 1972 to 1994. Am J Obstet Gynecol 1995; 173: 322.

36) Di Renzo GC, De Domenico P, Iacobelli P, et al. Management della minaccia di parto pretermine. Ginecologia ed Ostetricia. Verduci editore 2005.

37) Caritis S. Adverse effects of tocolytic therapy. BJOG 2005 Mar;112 Suppl 1:74-8.

38) Royal College of Obstetricians and Gynecologists. Clinical Green Top Guidelines. Tocolytic drugs for women in preterm labour. October 2002.

39) Makrides M, Crowthr CA. Magnesium supplementation in pregnancy. Cochrane Database Syst Rev 2001;4:CD000937.

40) Grether JK, Hoogstrate J, Selvin S, et al. Magnesium sulfate tocolysis and risk of spastic cerebral palsy in premature children born to woman without preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2000;183:717.

41) Evidence Report/Technology Assessment No 18. Management of preterm labour. AHRQ Publication No 01-E021, October 2000.

42) Tsatsaris V, Papasonis D, Goffinet F, et al. Tocolysis with nifedipine or beta adrenergic agonists : A meta-analysis. Obstet Gynecol 2001; 97:840.

- 43) Ables AZ, Romero AM, Chauhan SP: Use of calcium Channel Antagonists for preterm labour. *Obstet Gynecol Clin North Am* 32 (2005) 519.
- 44) Anotayanonth S, Subhedar NV, Garner P, et al. Betamimetics for inhibiting preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev* 4 2004; CD004352.
- 45) Caritis SN, Venkataramanan R, Darby MJ, et al. Pharmacokinetics of ritodrine administered intravenously: Recommendations for changes in the current regimen. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:429.
- 46) Akerlud M. Targeting the oxytocin receptor to relax the myometrium. *Expert Opin Ther Targets*. 2006 Jun; 10 (3):423-7.
- 47) Moutquin JM, Sherman D, Cohen H, et al . Double blind, randomised, controlled trial of atosiban and ritidrine in the treatment of preterm labour:A multicenter effectiveness and safety study. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:1191.
- 48) Worldwide Atosiban versus Beta-Agonists Study Group. Effectiveness and safety of the oxytocin antagonist atosiban versus beta-adrennergic agonists in the treatment of preterm labour. *Br J Obstet Gynecol* 2001;108:133.
- 49) Tsatsaris V, Carbonne B, Cabrol D. Atosiban for preterm labour. *Drugs*. 2004;64(4):375-82.  
Lamont RF. The development and introduction of anti-oxytocic tocolytics. *BJOG* 2003 APR; 110 Suppl 20:108-12.
- 50) Valenzuela GJ, Craiq J, Bernhardt MD, Holland ML. Placental passage of the oxytocin antagonist atosiban. *Am J Obstet Gynecol* 1995 Apr;172(4 Pt 1):1304-6.
- 51) Torsten M, Reinheimer. Barusiban suppresses oxytocin-induced preterm labour in non human primates. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2007, 7 (Suppl):S15
- 52) Sitruk-Ware R, Bricaire C, De Lignieres B et al: Oral micronized progesterone. Bioavailability pharmacokinetics, pharmacological and therapeutic implications—a review. *Contraception*. 1987 Oct;36(4):373-402.

- 53) Dodd JM, Flenady V, Cincotta R, Crwther CA: prenatal administration of progesterone for preventing preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev* 2006 Jan 25;(1):CD004947 .
- 54) Rebarber A, Ferrara LA, Hanley ML et al. Increased recurrence of preterm delivery with early cessation of 17-alpha-hydroxyprogesterone caproate. *Am J Obstet Gynecol*. 2007 Mar; 196(3):224. e 1-4.
- 55) Rebarber A, Istwan NB, et al. Increased incidence of gestational diabetes in women receiving prophylactic 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate for prevention of current preterm delivery. *Diabetes Care*. 2007 Sep;30(9):2277-80.
- 56) Audra P, Mellier G, Faguer B et al. The administration of micronized progesterone in the treatment of threatened premature labor. *Rev Fr Gynecol Obstet*. 1991 Dec; 86(12):751-6.
- 57) Fonseca EB, Bittar RE, Carvalho MH, Zugaib M. Prophylactic administration of progesterone by vaginal suppository to reduce the incidence of spontaneous preterm birth in women at increased risk: a randomized placebo-controlled double-blind study.
- 58) Fonseca EB, Celik E. et al Progesterone and risk of preterm birth among women with a short cervix. *N Engl J Med* 2007.
- 59) Romero R, Espinoza J, Gotsch F, et al. The use of High-dimensional biology (genomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics) to understand the preterm parturition syndrome. *BJOG* 2006 Dec; 113 Suppl 3:118-35.
- 60) Buhimschi CS, Weiner CP, Buhimschi IA. Clinical proteomics: a novel diagnostic tool for new biology of preterm labour, part I: proteomics tools. *Obstet Gynecol Surv*. 2006 Jul;61(7):481-6.
- 61) Buhimschi CS, Weiner CP, Buhimschi IA. Proteomics, part II: The emerging role of proteomics over genomics in spontaneous preterm labour/birth. *Obstet Gynecol Surv*. 2006 Aug;61(8):543-53.
- 62) Esplin MS, Varner MW. Genetic factors in preterm birth- the future. *BJOG*. 2005 Mar;112 Suppl 1:97-102.

